7/63/24

NAUNYN-SCHMIEDEBERGS

ARCHIV

FÜR

EXPERIMENTELLE PATHOLOGIE UND PHARMAKOLOGIE

UNTER MITWIRKUNG
DER DEUTSCHEN PHARMAKOLOGISCHEN GESELLSCHAFT

HERAUSGEGEBEN VON

DR. L. HEILMEYER
PROFESSOR DER INNEREN MEDIZIN
FREIBURG i. Br.

DR. W. HEUBNER
EM. PROFESSOR DER PHARMAKOLOGIE
HEIDELBERG

DR. L. LENDLE
PROFESSOR DER PHARMAKOLOGIE
GÖTTINGEN

224. BAND, 3. HEFT
MIT 34 TEXTABBILDUNGEN
ABGESCHLOSSEN AM 7. JANUAR 1955

CAL. LORD
DEC 22 1955
L. R. V.

BOSTON
FEB 9 1955
MEDICAL LIBRARY

BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
SPRINGER-VERLAG
1955

Arch. exper. Path. u. Pharmakol.

Naunyn-Schmiedebergs Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie

Begründet 1873 von *B. Naunyn, O. Schmiedeberg, E. Klebs.* Unter Mitwirkung von Fachgenossen herausgegeben von *L. Krehl, W. Straub, W. Heubner* u. a., ab Band 208/2 unter Mitwirkung der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft.

Band 2—158 (1931) Leipzig, F. C. W. Vogel, Band 159—198 (1941) Berlin, F. C. W. Vogel. Ab Band 199 Berlin, Springer.

Die Zeitschrift erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials in Heften, die zu Bänden zusammengestellt werden. Der Preis des Bandes beträgt DM 82.—.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä. von den Zeitschriften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Bei Arbeiten aus Instituten ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Die Mitarbeiter erhalten von ihren Arbeiten 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Manuskripte sind zu senden an:

Prof. Dr. W. HEUBNER, Heidelberg, Ladenburger Str. 69,

Prof. Dr. L. LENDLE, Göttingen, Geiststr. 9, Pharmakologisches Institut der Universität,

Prof. Dr. L. HEILMEYER, Freiburg i. Br., Hugstetterstr. 55, Medizinische Universitätsklinik,

oder an den

Springer-Verlag

Heidelberg Neuenheimer Landstr. 24, Fernsprecher 2440

Berlin W 35 Reichpietschufer 20, Fernsprecher 249255

---

224. Band **Inhaltsverzeichnis.** 3. Heft

Seite

Jung, F., und **K. Onnen,** Bindung und Wirkungen des Formaldehyds an Erythrocyten. Mit 6 Textabbildungen 179

Hagen, U., Toxikologie organischer Quecksilberverbindungen. Mit 2 Textabbildungen 193

Meier, R., W. Schuler und **R. Krueger,** Pharmakodynamische Bedeutung der Zell-Stoffwechselwirkung „cytotoxischer" Stoffe. Mit 7 Textabbildungen 206

Porro, A., Die Wirkung des Acetylcholins auf die glatte Darmmuskulatur in ihrer Beziehung zu den Stoffwechselcyclen. Mit 5 Textabbildungen. . . 224

Koransky, W., und **M. Wolf,** Über die Beeinflussung der enteralen Natrium- und Kaliumbindung an Kationenaustauscher. Mit 3 Textabbildungen . 232

Malafaya-Baptista, A., J. A. Guimarãis, J. Garrett und **W. Osswald,** Einfluß von Luminal und Pentothal auf die Inaktivierung von l-Adrenalin und l-Noradrenalin durch Aminoxydase. Mit 3 Textabbildungen 243

Das, N. N., S. R. Dasgupta and **G. Werner,** The effect of chlorpromazine on the electrical activity of the „cerveau isolé". With 2 figures in the text 248

Kühns, K., und **K. Th. Ehlers,** Über Wasser- und Elektrolytverschiebungen in Organen nach Infusionen von K- und Na-Salzen. Mit 3 Textabbildungen 253

Bohnstedt, R. M., und **W. Lanz,** Tierexperimentelle Untersuchungen über einen ACTH-Effekt des Terpentinöls. Mit 3 Textabbildungen 262

Kuschke, H. J., und **J. Frantz,** Über eine hyperglykämische Wirkung von Reserpin 269

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Warenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 224, S. 179—192 (1955).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Humboldt-Universität zu Berlin
und dem Institut für Medizin und Biologie, Abt. Pharmakologie,
der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin.

Bindung und Wirkungen des Formaldehyds an Erythrocyten.

Von

F. Jung und K. Onnen.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 17. Juli 1954.)

Formaldehyd bringt für ein eingehenderes Studium des Adstriktionsvorganges einige günstige Voraussetzungen mit sich: Seine Umsetzung mit Proteinen ist gut untersucht und weitgehend aufgeklärt. Wilbrandt hat sein Eindringen in die Zelle zum Gegenstand einer gründlichen Studie gemacht. Er hat zudem wichtige Daten über seine gerbenden und hämolytischen Wirkungen mitgeteilt. Einen Hinweis auf die durch Formaldehyd bei seiner Einwirkung beeinflußte Membrankomponente gab unsere Feststellung (Jung u. Schwartzkopff), daß die hämolytische Wirkung des Digitonins durch den Aldehyd praktisch nicht beeinflußt wird. Modellversuche am Hämoglobin (Scheler und Jung) ließen uns folgern, daß formaldehydbehandelte lebende Zellen bestimmte Stoffwechselveränderungen zeigen sollten; tatsächlich können Formaldehydkonzentrationen um $1—5 \times 10^{-3}$ g/ml die Methämoglobinrückbildung je nach den Bedingungen sowohl hemmen wie fördern (unveröffentlicht). Offen bleibt in diesem Zusammenhang das wichtige Kapitel des aktiven Ionentransports durch die „adstringierte" Zelle. Veränderungen desselben lassen sich auf Grund von Modellversuchen (Wallis) erwarten.

Wir berichten hier zunächst über einige Versuche, die an die Zellen gebundenen Mengen des Aldehyds quantitativ zu bestimmen. Dies war uns mit Hilfe einer vor kurzem von Nash angegebenen Methode möglich. Der Bindungsort des Aldehyds innerhalb der Struktur ist weiterhin unbekannt. Wir versuchten daher im Anschluß an die analytischen Daten einige morphologische Angaben über diesen Ort zu gewinnen, wobei wir uns der elektronenoptischen Methode bedienten, die sich uns schon bei anderen verwandten Problemen nützlich gezeigt hatte.

Methodik.

I. Bestimmung des Formaldehyds: Das jüngst von Nash angegebene Verfahren zeigte sich überaus brauchbar; es beruht auf einer Kondensationsreaktion des Formaldehyds mit Acetylaceton und Ammoniak zu einem cyclischen Derivat

von kräftig gelber Farbe. — 10 ml eines formaldehydhaltigen Ansatzes, dessen HCOH-Konzentration nach Verdünnung aus dem Versuchsansatz möglichst zwischen 10^{-5} und $2{,}5 \times 10^{-4}$ liegen sollte, wurde mit 10 ml des Nash-Reagenzes versetzt.

Reagens: 2 m Ammoniumacetat, 0,05 m Essigsäure, 0,02 m Acetylaceton.

Die Haltbarkeit des fertigen Reagenzes beträgt etwa 1 Tag. Es muß also täglich frisch angesetzt werden. Nach Mischung der Formaldehydlösung und des Reagen es entwickelt sich langsam eine gelbe Farbe, deren Tiefe nach etwa 20 Std mittels eines photoelektrischen Colorimeters gemessen wurde (Messung bei 415,3 mμ, Interferenzfilter des Schott VEB Jena mit einer Halbwertsbreite von 9,45 mμ und einem D_{max} von 39,4%. Batteriegespeiste und wassergekühlte 100 Watt-Projektionslampe als Lichtquelle, Meßprinzip nach R. Havemann).

Auf Wiedergabe der Eichkurve wird im Hinblick auf deren apparative Gebundenheit verzichtet. Besondere Schwierigkeiten bei der Bestimmung ergaben sich nicht. Die Methode dürfte, entsprechend den Angaben Nashs, für Untersuchungen in biologischem Milieu besonders geeignet sein.

Für den Bindungsversuch wurde jeweils ein bestimmtes Quantum der Formaldehydlösung mit einem bestimmten Quantum der Blutzellsuspension gemischt. Die gebundene Menge Formaldehyd ergab sich aus der Differenz zwischen der aus der Mischung resultierenden *Anfangs*konzentration des Aldehyds und der bei einer Probeentnahme im Überstehenden tatsächlich festgestellten *End*konzentration. Außer diesem gebundenen Formaldehyd enthalten die Zellen natürlich noch gelösten Formaldehyd im Gleichgewicht mit dem Suspensionsmedium. Unsere Berechnung setzt voraus, daß das lösende Volumen der Zellen deren Gesamtvolumen entspricht; infolge der Unrichtigkeit dieser Voraussetzung enthält die Berechnung einen Fehler, welcher die gebundene Menge etwas zu klein erscheinen läßt. Doch ist der Fehler quantitativ unbedeutend, da der Volumanteil der Zellen im Ansatz nicht groß ist.

II. Mikroskopische Verfahren: Die lichtoptischen Untersuchungen der Zellen wie isolierten Membranen geschahen sowohl phasenmikroskopisch wie im üblichen Hellfeld. Kontrollaufnahmen wurden mittels des von Row entwickelten Mikrophot durchgeführt. Dieses Mikroskop mit eingebauter Kleinbildkamera zeigte sich erheblich brauchbarer als die üblichen Anordnungen mit aufgesetzter Kamera. — Die elektronenoptischen Untersuchungen wurden mit einem Siemens-Gerät durchgeführt. Gelegentlich angewandte Metallbedampfungen wurden mit einem selbst entwickelten sehr einfachen Gerät vorgenommen. Die Präparation der Zellen wie Membranen wurde schon öfters von uns beschrieben (Jung[1]).

Alle Versuche wurden an menschlichen Zellen durchgeführt. Diese wurden mehrfach mit physiologischer Lösung gewaschen und dann mit der Formaldehydlösung vorbehandelt. Anschließend kam die Zellsuspension für die genannte Zeit (Tabelle) in ein vortemperiertes Reagen glas, das in einem Höppler-Thermostaten von der gewünschten Temperatur hing. Nach Ablauf der Einwirkungszeit wurde eine Probe entnommen und sofort mit OsO_4 fixiert. Zur Objektivierung wurden *alle* Präparate photographiert, statt der lichtoptischen Aufnahmen werden jedoch nur einige typische elektronenoptische Ergebnisse an unhämolysierten Zellen wiedergegeben. — Die Darstellung der Membranen geschah auf die übliche Weise, d. h. die aus dem Thermostaten entnommene Probe wurde sofort in einem Überschuß von Wasser hämolysiert und dann die Membranen dargestellt. Alle Präparate sind osmiumfixiert. (Für fleißige Mitarbeit bei diesen Versuchen danken wir Frl. I. Uerlings.)

I. Bindung des Formaldehyds durch menschliche Blutzellen.

1. Bindungsgeschwindigkeit. Gewaschene menschliche rote Blutzellen wurden in einer Formaldehyd-haltigen physiologischen Lösung suspendiert und zu bestimmten Zeitpunkten wieder abgetrennt. Abb. 1 vermittelt den Verlauf der Konzentration in der wieder abgetrennten Lösung. Auf Grund dieses Versuches nehmen die roten Blutzellen den Aldehyd außerordentlich schnell aus der Suspensionslösung auf. Die scheinbare — im Versuch festgestellte — Aufnahmegeschwindigkeit

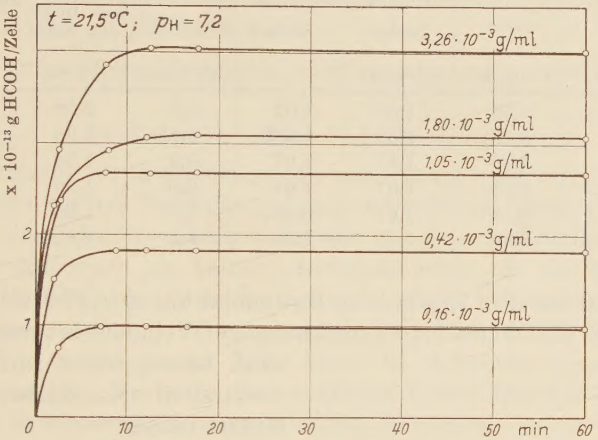


Abb. 1. Bindung des Formaldehyds an rote Blutzellen. Die an die einzelnen Kurven angeschriebenen Zahlen sind die Endkonzentrationen an Aldehyd im Suspensionsmedium. (Versuch F 5, menschliche Zellen.)

enthält 2 Komponenten, die Eindiffusion und die Bindung des Aldehyds an Zellbestandteile; sie kann also kaum weiter analysiert werden.

2. Einfluß der Wasserstoffionen-Konzentration. Die Zellen wurden in einer Formaldehydlösung suspendiert, der durch Zugabe eines isotonen Phosphatpuffers ein verschiedenes p_H erteilt worden war. Die folgende Tabelle gibt das Ergebnis eines Versuchs wieder:

Zellen 10^9/ml	p_H	HCHO-Konzentration Beginn 10^{-4} g/ml	HCHO-Konzentration Ende	geb. HCHO 10^{-4} g/ml	geb. HCHO/Zelle 10^{-14} g/Zelle
2,6	5,9	4,02	1,95	2,07	7,95
2,6	6,8	4,02	1,74	2,28	8,77
2,6	7,25	4,02	1,71	2,31	8,90

Die von der Theorie her zu erwartende Zunahme der Formaldehydbindung mit fallender H-Ionenkonzentration ließ sich somit im Versuch feststellen. Andererseits ist jedoch der Effekt wesentlich geringer, als er erwartet werden durfte. Dies hängt vermutlich damit zusammen, daß das

im Außenmilieu herrschende p_H nicht einfach auf das Zellinnere übertragen werden darf.

3. Formaldehydbindung und Zellvolumen. Ein verschieden großes Zellvolumen läßt sich bei einer einzelnen Tierart nicht beobachten: wir haben daher die Bindung des Formaldehyds in den Zellen verschiedener Tierarten verglichen. Alle Versuchsansätze wurden unter vergleichbaren Bedingungen angesetzt. Die Versuche sind in der folgenden Tabelle enthalten:

Tierart	Zellen	HCHO-Konzentration Beginn	HCHO-Konzentration Ende	geb. HCHO	geb. HCHO je Zelle	geb. HCHO je Volumeinheit der Zelle
	10^9/ml	10^{-3} g/ml		10^{-3} g/ml	10^{-13} g	10^{-15} g/μ^3
Mensch	2,38	1,55	1,02	5,3	2,22	2,55
Kaninchen . . .	3,73	1,55	1,035	5,15	1,38	2,42
Kaninchen . . .	3,10	1,61	1,07	5,4	1,74	3,05
Katze	4,38	1,61	1,04	6,0	1,36	2,38
Ratte	4,16	1,61	0,86	7,5	1,80	4,4 !
Schaf	5,40	1,55	1,11	4,4	0,815	2,55

Sieht man von dem Ergebnis an Rattenblut ab, so wird deutlich, daß die Konstanz der Werte bei Umrechnung auf Volumeneinheiten besser wird. Dies spricht dafür, daß ein Bestandteil des Zellinnern das HCHO bindet.

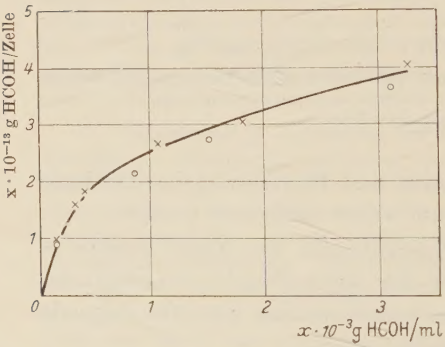


Abb. 2. Bindung des Formaldehyds an rote Blutzellen. × und ○ Werte aus zwei verschiedenen Versuchen an menschlichen Zellen. Abszisse: Formaldehydkonzentration im Suspensionsmedium zu Versuchsende.

4. Formaldehydkonzentration und -bindung. Wie die Abb. 1 zeigt, ist die gebundene Formaldehydmenge von der Formaldehydkonzentration abhängig. Abb. 2 zeigt nunmehr eine Umrechnung eines weiteren Versuchs, wobei der je Zelle gebundene Formaldehyd der zu Versuchsende im Außenmilieu vorhandenen Konzentration gegenübergestellt wurde. Dabei ist auffallend, daß die Kurve keine einfache Massengleichgewichtshyperbel darstellt: Bei niederen Konzentrationen wird zunächst der Aldehyd stärker gebunden, ab $5{,}0 \cdot 10^{-4}$ g/ml nimmt die Bindungsneigung dagegen erheblich ab. Durch Extrapolation läßt sich zeigen, daß etwa $1{,}5 \cdot 10^{-13}$ g/Zelle stärker gebunden werden als der Rest.

5. Reversibilität der Bindung. Zur Frage der Reversibilität der Bindung des Aldehyds werden die Zellen nach Versuchsende 3mal mit

physiologischer Lösung gewaschen, dann wurde ein zweiter Versuch mit ihnen angesetzt. Die Formaldehydlösung besaß ein p_H von 7 und eine Ausgangskonzentration von $1{,}55 \cdot 10^{-3}$ g/ml. Beim ersten Versuch wurde $2{,}2 \cdot 10^{-13}$ g/Zelle gebunden, beim zweiten Versuch nur noch $1{,}07 \cdot 10^{-13}$ g/Zelle.

In einem zweiten Versuch wurden die Zellen nach Versuchsende abzentrifugiert und in physiologischer Salzlösung resuspendiert. In dieser ist nach einiger Zeit Formaldehyd nachweisbar, und zwar mehr als der einfachen Volumverteilung des gelösten Formaldehyds der resuspendierten Zellen entsprechen würde.

Die Formaldehydbindung ist somit mindestens partiell reversibel.

II. Formaldehyd-bindende Strukturelemente.

Bestimmte Strukturelemente der roten Blutkörperchen werden bereits durch sehr geringe Formaldehydmengen verfestigt. Wesentliche Schädigungen des Zellstoffwechsels lassen sich dabei noch nicht beobachten. Es handelt sich somit um keinen „Fixations"effekt, da die Zelle lebendig bleibt. Er läßt sich zudem an der nicht weiter behandelten Zelle *nicht* nachweisen, sondern wird erst deutlich, wenn eine weitere Noxe die Zelle trifft. Eine solche zweite Noxe kann die Wasserhämolyse darstellen. Geeigneter zum Nachweis des erwähnten Formaldehydeffektes ist aber eine bei Erwärmung der roten Blutzelle auftretende irreversible Störung der Struktur.

1. Zellschädigung durch Wasserhämolyse. Diese ist an normalen reifen Blutkörperchen der Säuger nicht von der Entfernung des Hämoglobins durch den hämolytischen Prozeß abgrenzbar. Bei jugendlichen Zellen und vor allem den kernhaltigen Zellen der Vögel treten aber zur Hämoglobinentfernung weitere makroskopisch sichtbare Strukturveränderungen hinzu: Die Kerne bekommen Vacuolen, schwellen an und lösen sich schließlich völlig auf. Das Hämolysat bildet ein schnell gelierendes Nucleoproteinsol, das beim Schütteln oder gar Zentrifugieren flockt. Dabei geht jede Möglichkeit zur elektronenoptischen Darstellung der Membranen verloren. Der phasenoptisch gut zu verfolgende Vorgang wurde schon wiederholt beschrieben, zuletzt von E. Ponder.

Vorbehandlung mit Formaldehyd führt je nach Einwirkungskonzentration und Dauer zu einer Strukturstabilisierung. Die Auswaschbarkeit des Hämoglobins wird dabei nicht wesentlich verändert. Die folgende Tabelle gibt unsere wesentlichsten Ergebnisse wieder.

Die Zellen wurden jeweils in physiologischer Lösung von p_H 7 suspendiert und auch in diesem Milieu mit dem Aldehyd behandelt. In bestimmten Zeitabständen wurden Proben entnommen und mit Wasser hämolysiert. Das Hämolysat wurde mittels des Phasenkontrastverfahrens und elektronenoptisch untersucht.

	Formaldehydkonzentration g/ml	Einwirkungsdauer min
Kernzerfall, Flockung	5×10^{-4}	60
	$1{,}5 \times 10^{-3}$	15
Klare Hämolyse ohne Flockung,	$1{,}5 \times 10^{-3}$	60
Kernvacuolisierung in den niederen Konzentrationen	$3 \times 10^{-3} - 4 \times 10^{-2}$	15
Beginn der Hämoglobinausfällung . .	$4{,}5 \times 10^{-2}$	15
Stärkere Hämoglobinfällung	$6{,}5 \times 10^{-2}$	15

Formaldehyd ab $1{,}5 \cdot 10^{-3}$ g/ml beeinflußt somit eindeutig die Zellstruktur. Abb. 3 ergänzt diese Tabelle. Die elektronenoptische Wiedergabe unbehandelter Membranen war *nicht* befriedigend möglich; in sehr vielen Präparaten war nur gelegentlich ein Membranrest feststellbar. Durch Vorbehandlung mit höheren Konzentrationen des Aldehyds ließ sich demgegenüber eine gute Darstellung der Zelle erreichen. Abb. 3a zeigt den Kern der Zelle scharfrandig und undurchstrahlbar. Die Zellmembran weist eine gewisse Strukturierung auf: Sie scheint aus zwei Komponenten zu bestehen, einer dichteren grobmaschigen Substanz und einer zarteren unterliegenden Membran. (In der Wiedergabe kommt dies allerdings nicht deutlich heraus.) — Um die Anfangsstadien der Kernzerstörung zu zeigen, wurden Hühnerzellen unter Anwendung von Digitonin bei Erhaltung des ursprünglichen Milieus hämolysiert. Dabei treten mehr oder minder umfangreiche Quellungserscheinungen am Kern auf, die in Abb. 3b und c festgehalten sind. Sie entsprechen praktisch den lichtoptisch während der Zellschwellung und Lyse durch hypotones Milieu eintretenden Veränderungen, können somit als Kontrolle gegenüber Abb. 3a gelten. Die Membranen erscheinen in diesen Versuchen erheblich substanzärmer, zudem ist ihre Faltung geringer. Die kontrastreichere Komponente der Membran aus 3a ist nicht vorhanden. Der Zellkern ist in Abb. 3b und vor allem c erheblich größer und in c zudem in Auflösung. Die Bildung von Vakuolen ist sehr deutlich. Der Versuch belegt somit, daß es durch nicht fixierende Formaldehydkonzentrationen gelingt, Strukturen der Membran und des Kerns gegenüber unphysiologischen Milieubedingungen zu stabilisieren. Daß es sich um keine eigentliche Fixation der Zelle (auch bei der Anwendung höherer Aldehydkonzentrationen) handelt, geht aus der Nichtbeeinflussung der Auswaschbarkeit des Hämoglobins hervor.

Ebenso wie an Hühnerzellen wurde auch an Reticulocyten der Ratte die Stabilisierung der empfindlichen Plasmastrukturen deutlich. Sie läßt sich in diesem Falle als präparativer Kunstgriff verwenden. (Vgl. Jung[4].)

Diese Versuche belegen somit, daß es durch Formaldehydanwendung gelingt, innerhalb von Zellen einige Strukturen elektiv gegenüber Hypotonie zu stabilisieren.

2. Zellschädigung durch Erhitzung. Die an roten Blutkörperchen bei Erhitzung über 49° eintretenden Veränderungen wurden von uns schon vor längerer Zeit elektronenoptisch dargestellt. Diese — lichtoptisch wie elektronenoptisch beobachtbaren — Strukturstörungen können durch Formaldehyd ganz oder partiell verhindert werden.

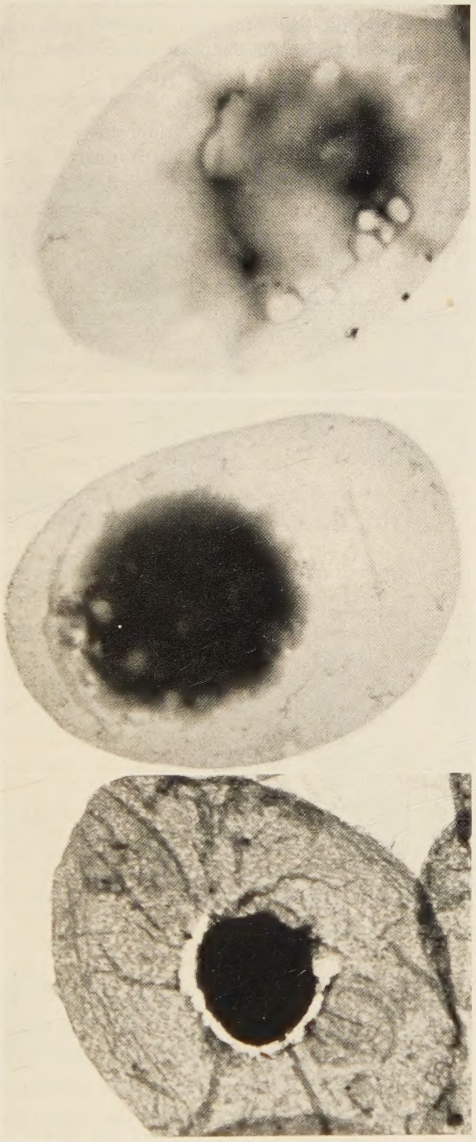


Abb. 3. Hühnererythrocyten: *a* 14 min mit $2{,}5 \cdot 10^{-2}$ g/ml Formaldehyd behandelt, dann mit Wasser lämolysiert und osmiumfixiert (1408/53). *b* und *c* Digitonin-hämolysiert, dann osmiumfixiert. Vgl. Text. Beachte Kernquellung und -vacuolisierung. (1370/53), (1372/53.)

Wir haben diese Vorgänge an anderer Stelle eingehender beschrieben. Da sich im Laufe der Zeit unsere Anschauung über dieselben etwas verändert hat [vgl. Jung (1) und Jung (2)], stellen wir unsere gegenwärtige Auffassung folgendermaßen fest: Bei einer relativ scharf bestimmten Temperatur (um 49°) wird ein ganz bestimmter Bestandteil der Zellstruktur — das Plasmolemma — unstabil und koaguliert. Da dieser Bestandteil für die äußere Form der Zelle verantwortlich ist, nimmt die Zelle über dieser Temperatur, und irreversibel, eine physikalisch-chemische Gleichgewichtsform an, die im einzelnen durch Zelloberfläche, Zellinhalt und Oberflächenspannungserscheinungen bestimmt wird. Sie rundet sich ab. Da aber bei dieser Abrundung ein anderes Verhältnis zwischen Oberfläche und Inhalt auftritt, bleibt „Oberfläche übrig". Die Folge davon ist, daß sich die Zelle nicht nur abrundet, sondern auch teilt oder kleine Partikel abschnürt, so daß insgesamt das Oberflächen/Inhalt-Verhältnis der ursprünglichen bikonkaven Zelle angenähert erhalten bleibt. Je nach dem Milieu, also vermutlich nach der Oberflächenspannung

zwischen Zelle und Medium, bilden sich hierbei einige größere Partikel oder viele kleine und kleinste Kügelchen. Schubothe zeigte vor kurzem, daß hierfür im Serum ein bestimmender Faktor ist. Wir konnten dies bestätigen. Je nach den Bedingungen beobachtet man somit Fragmentation bzw. Schizocytose der roten Blutzelle oder nur die Bildung von kleinen Fädchen, Kügelchen und ähnlichen Gebilden (Pseudospirochäten, Hämatexodien usw.). Dieser Ablauf wird durch die mechanische Stabilität des „Plasmolemmas" bestimmt. Dieses reagiert auch sehr empfindlich auf die Einwirkung geringer oder geringster Aldehydkonzentrationen.

Zur Charakterisierung der Formaldehydwirkung läßt sich vor allem die Abrundung der Zelle (*R*), dann die Ausbildung eines (lichtoptisch) flimmernden Kranzes feinster Fädchen bzw. Kügelchen (*S*), schließlich die Abtrennung von Blutfäden und die Bildung größerer hämoglobinhaltiger Kugeln (*K*) verwenden. Die eigentliche Schizocytose, d. h. der Zerfall in wenige größere Bruchstücke, ist auch in den Kontrollen kaum zu beobachten, da wir stets in künstlichem Milieu und niemals in Serum arbeiteten. Elektronenoptisch kommt zu diesen Charakteristica die Feinstruktur der Zellmembran, insbesondere des Plasmolemmas, hinzu. Daneben läßt sich elektronenoptisch an fixierten unhämolysierten Zellen die Summe der lichtoptisch darstellbaren Phänomene eingehender studieren.

Folgende Tabelle bringt das Ergebnis eines von zahlreichen Versuchen: In der Tabelle bedeutet 0 = normale bikonkave Zelle, R = abgerundete Zellen, S = Zellen mit Kranz von Strahlen, Fäden und Kügelchen und K = Bildung größerer hämoglobinhaltiger Kügelchen. Bei Fehlen einer Angabe liegt keine Beobachtung vor.

Lichtoptisches Bild von menschlichen Blutzellen nach Erwärmung auf 50°.

Formaldehyd-konzentration g/ml	Formaldehyd-Einwirkungs-dauer min	Wärmeeinwirkung 50° in min				
		0	1	2	5	60
0	—	0	R	RSK	RSK	RSK
1×10^{-3}	3,5	0	0	RS	RS	RS
1×10^{-3}	20	0	0	R	RS	RS
1×10^{-3}	90	0	0	0	(R)	R(S)
3×10^{-3}	3,5	0	R	R(S)		RS
3×10^{-3}	25	0	0	R		R(S)
3×10^{-3}	90	0	0	0	0	0
1×10^{-2}	2,5	0	R	R	R(S)	R(S)
1×10^{-2}	30	0	0	(R)	(R)	R(S)
1×10^{-2}	90	0	0	0	0	0

Die Tabelle belegt den oben behaupteten Einfluß des Formaldehyds auf bestimmte Zellstrukturen. Die Abb. 4 möge den Inhalt der Tabelle am elektronenoptischen Bild unhämolysierter Zellen noch weiter erläutern.

4 zeigt den Ablauf der Schizocytose bei unbehandelten Zellen: Zunächst gibt sie das elektronenoptische Bild unerhitzter Zellen (4a), dann die Erscheinungen bei beginnender Veränderung (48,5°) (4b). Die Bildung von Zellausläufern, die Abschnürung von Fädchen und Kügelchen ist wohl deutlich. Das in 4c wiedergegebene Bild gibt das Endstadium wieder, das definitiv nach Erhitzen über 50° erreicht wird. Die Inkonstanz der Ergebnisse, die früher mitunter bei solchen Versuchen auftrat, hängt mit dem Serumfaktor Schubothes zusammen. 4d gibt formaldehyd-

behandelte Zellen wieder: Die Ausbildung der Fädchen scheint vollständig gehemmt. Es entwickeln sich an der Zelloberfläche noch Kügelchen oder warzenähnliche Gebilde, die sich aber nicht immer ablösen und mitunter ziemlich verformt sind. Stellt man diese Bilder denen von 4a—c gegenüber, so wird deutlich, daß die Ablösung der Zellfragmente gehemmt ist. Werden höhere Formaldehydkonzentrationen angewandt, so werden die Bilder von denen unerhitzter Zellen *ununterscheidbar*.

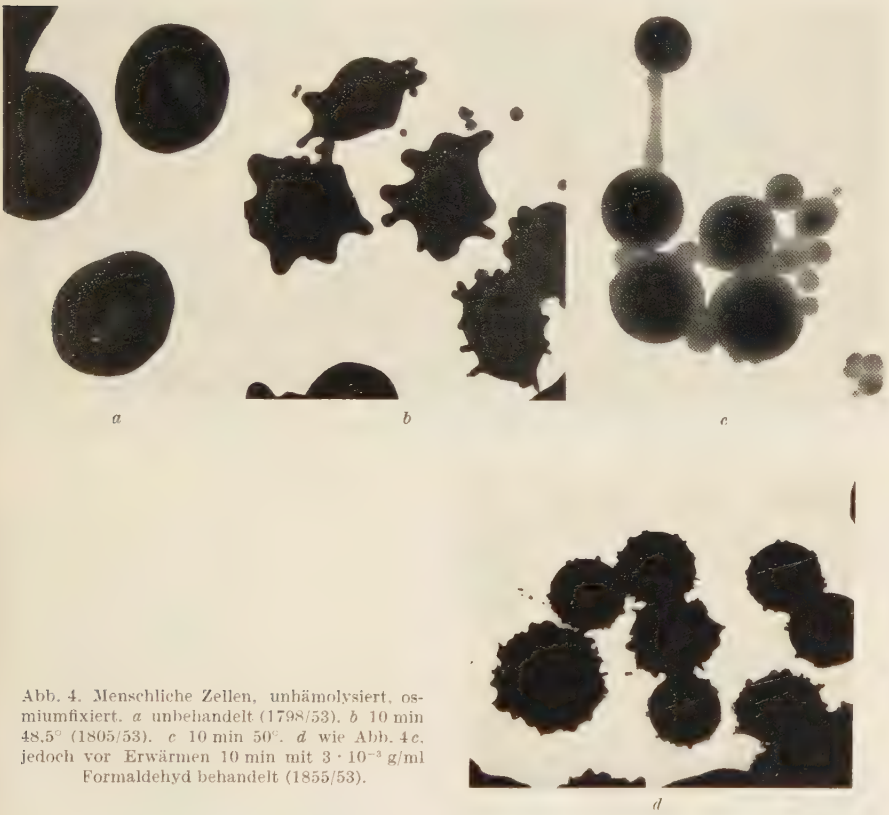


Abb. 4. Menschliche Zellen, unhämolysiert, osmiumfixiert. *a* unbehandelt (1798/53). *b* 10 min 48,5° (1805/53). *c* 10 min 50°. *d* wie Abb. 4*c*, jedoch vor Erwärmen 10 min mit $3 \cdot 10^{-3}$ g/ml Formaldehyd behandelt (1855/53).

Bei Darstellung der hämolysierten Zellen erhält man einen tieferen Einblick in die zugrunde liegenden Vorgänge. Es werden dieselben Ergebnisse erhalten, ob die Erhitzung vor oder nach der Lyse der Zelle vorgenommen wurde. Das Hämoglobin bzw. der osmotische Zustand der Zelle spielt daher für die zu beschreibenden Erscheinungen keine wesentliche Rolle. Das Ergebnis einiger Versuche gibt Abb. 5 wieder.

5a und b zeigt zunächst wieder das Verhalten normaler Zellen bei Erhitzen, also das normale Bild der Membran unerhitzter Zellen, wie die Koagulation des Plasmolemmas. 5c und d gibt dasselbe für formaldehydbehandelte Zellen wieder. Man sieht, daß mit zunehmender Intensität und Dauer der Formaldehydwirkung die Koagulation des Plasmolemmas ihren Charakter ändert, bis schließlich das

Bild den unerhitzten Zellen völlig entspricht. Dabei kann auf wesentlich höhere Temperaturen erhitzt werden (z. B. 52,5°). Nach Einwirkung geringer Konzentrationen des Aldehyds wird das Plasmolemma nur teilweise und feinkörnig koaguliert. Gleichzeitig ist die Abhebung bzw. Abtrennung des Epilemmas noch deutlich gehemmt.

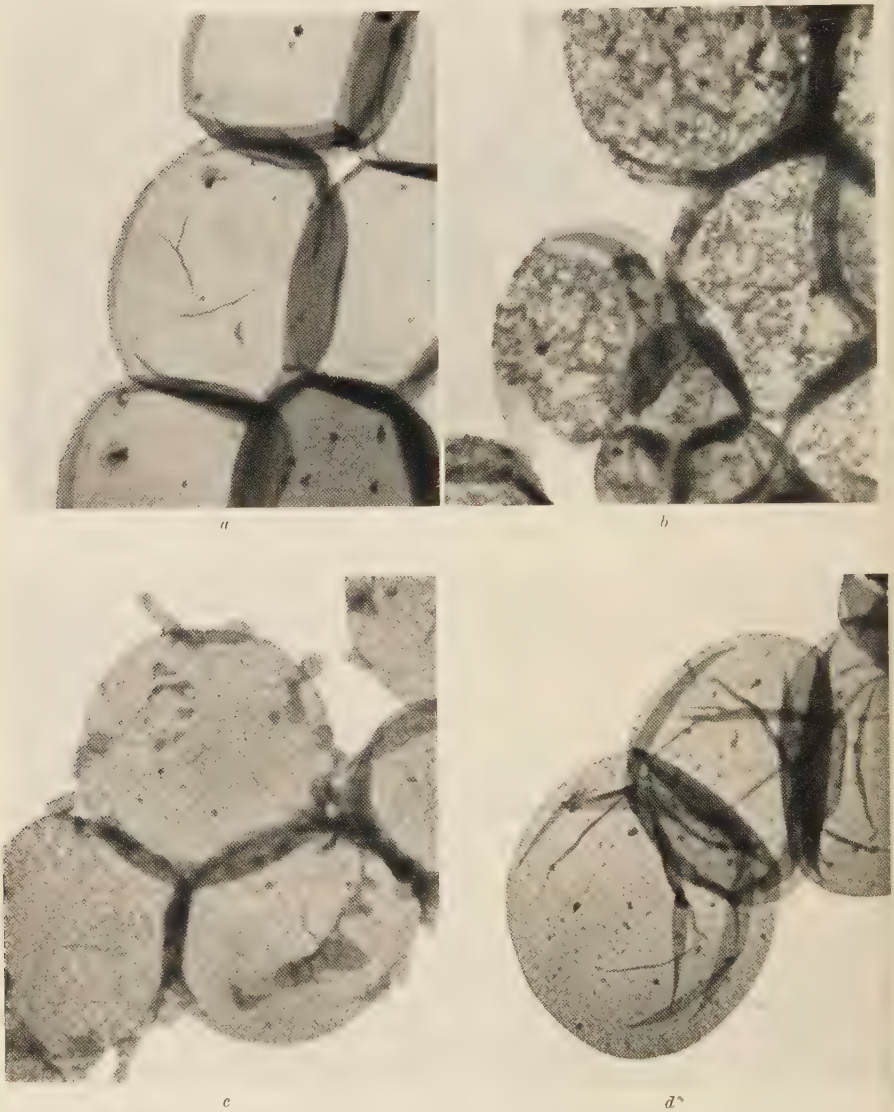
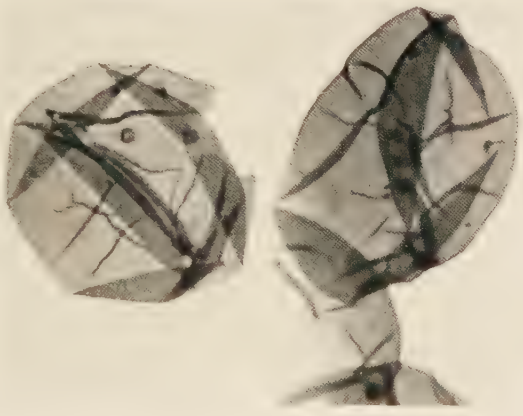


Abb. 5. Menschliche Zellen, hämolysiert, dann osmiumfixiert. *a* unbehandelt (1945 54). *b* Zellen 10 min auf 50° erhitzt (entspricht Abb. 4 *c*) (1879/54). *c* wie Abb. 5 *b*, jedoch 30 min mit 10^{-3} g/ml Formaldehyd vorbehandelt (vgl. 4 *d*) (1873/54). *d* wie Abb. 5 *b*, jedoch 3 Std mit $1 \cdot 10^{-2}$ g/ml Formaldehyd vorbehandelt (vgl. 4 *d*) (201/50).

Faßt man die in Abb. 4 und 5 wiedergegebenen Ergebnisse zusammen, so ergibt sich, daß bereits durch geringe Formaldehydkonzentrationen das Plasmolemma gegenüber thermischen Effekten stabilisiert wird und gleichzeitig die Ablösung des Epilemmas gehemmt erscheint. Durch den Aldehyd könnte somit die Verbindung zwischen Oberflächenschicht und darunter liegenden Zellstrukturen verfestigt worden sein. Dieser Effekt ist übrigens nicht reversibel, denn er ist auch nach Abtrennung des Formaldehyds von den Zellen noch feststellbar. Bei genügend langer Einwirkung ist er bereits nach Formaldehydkonzentrationen um 10^{-3} g/ml nachweisbar.

III. Fixation der Membran durch Formaldehyd.

1. Werden Membranen von roten Blutkörperchen mit geringeren Formaldehydkonzentrationen (0,3 und 0,5%) behandelt, so werden sie sehr brüchig und leicht zerstörbar. Ohne Nachfixation trocknen sie nach Einwirkung von etwa 0,3% Formaldehyd auf den Objektträgerfolien ähnlich wie unfixierte Membranen ohne Faltenbildung auf. Bei genauerer Betrachtung sind sie aber nicht wie diese homogen, sondern stark durchlöchert. Wird vor weiteren mechanischen Manipulationen mit Osmiumtetroxyd nachfixiert, so bieten sie das Bild normaler Zellmembranen. Nur finden sich sehr viel häufiger Rißbildungen oder auch stärker zerstörte Zellen. Beide Feststellungen werten wir als Beleg, daß bei der Einwirkung dieser geringen Aldehydkonzentrationen die Struktur noch nicht erheblich verfestigt, sondern lediglich „rigider" wird. Dies bedeutet jedoch (neben der oben berichteten größeren thermischen Stabilität) eine größere mechanische Fragilität: Das Bild einer menschlichen Blutzelle mit Rißbildung gibt Abb. 6a.



a *b*

Abb. 6. Menschliche Blutzellen, hämolysiert. *a* mit $5 \cdot 10^{-3}$ g/ml Formaldehyd behandelt, dann nach Hämolyse mit Osmiumsäure nachfixiert. (Rißbildung!) (1425/53). *b* nur mit 10^{-1} g/ml Formaldehyd fixiert. (Spontane Hämolyse durch Formaldehyd.) (1431/53).

2. Werden sehr hohe Formaldehydkonzentrationen an isolierten Membranen angewandt, so läßt sich eine echte Fixation erreichen. Die Membran ist dann auch ohne Nachfixation mit Osmiumtetroxyd stabil und trocknet auf der Objektträgerfolie unter Faltenbildung auf. Allerdings

wird bei einem Vergleich von Abb. 6b, die eine derartige Membran darstellt, mit Abb. 6a sowie Abb. 5 deutlich, daß die Membran lange nicht so stark fixiert ist, wie etwa nach Osmiumtetroxyd. Die Faltung und Strukturen zeichnen sich erheblich weicher.

Diskussion.

1. Durch Versuche von Scheler und Jung liegen einige Zahlenangaben über die Bindung von Formaldehyd an Methämoglobin vor. Nimmt man an, daß die quantitativen Verhältnisse beim Hämoglobin nicht wesentlich anders liegen, so läßt sich auf Grund dieser Angaben die in Abb. 2 wiedergegebene Bindungskurve etwas aufschlüsseln: 50% Bindung des Formaldehyds durch das Hämoglobin liegt bei einer Konzentration von etwa $1{,}78 \cdot 14^{-2}$ molar oder $5 \cdot 10^{-4}$ g/ml Formaldehyd vor. Nun enthält die rote Blutzelle des Menschen etwa $6 \cdot 10^{-16}$ mol. bzw. $2{,}4 \cdot 10^{-15}$ Äquivalente Hämoglobin. Bei der genannten Formaldehydkonzentration sollten daher $1{,}2 \cdot 10^{-15}$ Äquivalente bzw. $3{,}5 \cdot 10^{-14}$ g Formaldehyd spezifisch und reversibel an das Hämoglobin einer Zelle gebunden werden. Bei erheblich höheren Aldehydkonzentrationen könnten insgesamt $0{,}7 \cdot 10^{-13}$ g/Zelle gebunden werden. Tatsächlich wurde nun festgestellt, daß bei etwa 10^{-3} g/ml Formaldehyd etwa $1 \cdot 10^{-13}$ g/Zelle reversibel gebunden werden (vgl. Ie). Beide Werte sind somit kommensurabel. Es wurde ferner festgestellt, daß etwa $1{,}5 \cdot 10^{-13}$ g Zelle etwas stärker gebunden werden als der Rest des Formaldehyds. Berücksichtigt man nun, daß in den Versuchen Schelers und Jungs lediglich die Bindung an einer Gruppe des Hämoglobins studiert wurde und daß in diesem Protein noch andere Bindungsmöglichkeiten denkbar sind, die unter den Versuchsbedingungen dieser Autoren nicht in Erscheinung treten, so ist wohl bei Hinzunahme der Feststellung in I d und e folgende Aussage erlaubt:

Bei geringen Formaldehydkonzentrationen bindet sich der Aldehyd zu einem erheblichen Anteil spezifisch und reversibel an das Hämoglobin. Diese Bindung ist bei Konzentrationen über 10^{-13} g/ml weitgehend abgesättigt. Es tritt nun Bindung an andere Gruppen auf, die insbesondere an den Strukturproteinen der Zelle lokalisiert sein dürften. Diese Bindungen sind zu einem erheblichen Anteil (sowohl chemisch substantiell wie in der Veränderung der Proteineigenschaft) irreversibel. Tatsächlich haben wir eindeutige Stabilisationseffekte an der Struktur erst bei Konzentrationen um $1 \cdot 10^{-13}$ g/ml Formaldehyd feststellen können.

2. Nach den Versuchen Wilbrandts dringt Formaldehyd schnell in die Zellen ein. Unsere in Abb. 1 wiedergegebenen Kurven dürften somit nicht den Verlauf der Permeation, sondern den der Bindung an die Zellkomponenten wiedergeben. Aus diesen Kurven läßt sich entnehmen, daß die quantitative Bindung nach spätestens 10 min eingetreten ist. Dem-

gegenüber zeigt bereits die Tabelle S. 184 und noch deutlicher die Tabelle S. 186, daß die Strukturstabilisation bei den geringsten Aldehydkonzentrationen einen sehr erheblichen Zeitfaktor besitzt. Sie ist etwa bei Konzentrationen um $1 \cdot 10^{-3}$ g/ml nach 20 min noch nicht beendet und erst nach 90 min auf einem optimalen Wert.

Wir halten diese Feststellung für wichtig. Sie weist darauf hin, daß das Protein erst *nach* Formaldehydbindung sich langsam im Sinne einer größeren thermischen Stabilität verändert. Möglicherweise folgt der Bindung des Aldehyds an spezifische Gruppierungen eine langsame innere Umordnung der Struktur.

3. In einer Reihe weiterer Versuche (unveröffentlicht) ergab sich ferner, daß die Methämoglobinrückbildung durch Glucose und Lactat durch Vorbehandlung der Zellen mit Formaldehyd bis 10^{-3} g/ml nicht wesentlich verändert wird. Die Rückbildung durch ein in den Zellen vorhandenes, noch unbekanntes Substrat wird dagegen sehr gesteigert Höhere Aldehydkonzentrationen hemmen die Rückbildung, und zwar am stärksten bei Verwendung von Lactat als Stoffwechselsubstrat. Wesentlich scheint uns hier zunächst, daß eindeutig Struktur-stabilisierende Aldehydkonzentrationen den Stoffwechsel der Zelle nicht vernichten, sondern nur etwas verändern. Es wird wichtig sein, noch weitere Stoffwechselleistungen der „adstringierten Zelle" zu studieren, insbesondere wäre eine Untersuchung ihres aktiven Ionentransportes von Interesse. Dieser hängt ja wesentlich mit der Erhaltung der Zelle unter gestörten Umgebungsbedingungen zusammen.

4. Die Versuche des Abschnittes II geben einen Einblick in das Wesen der als Adstriktion bezeichneten Zellveränderung: Strukturstabilisation ohne wesentliche Stoffwechselveränderung. Die Grundlage der Erscheinung scheint beim Formaldehyd die elektive Reaktion des Adstringens mit stabilitätsbestimmenden Gruppen innerhalb der Zellstruktur zu sein. Stoffe, die weniger spezifisch mit solchen Gruppen reagieren, sondern gleichzeitig etwa wichtige Stoffwechsel-aktive Komponenten treffen, dürften weniger typisch als Adstringentien in Erscheinung treten. Wir halten es für möglich, daß durch eine systematische Studie der verschiedenartigsten Adstringentien solche Struktur-stabilisierenden Gruppierungen näher definiert werden können. Wir sind zum Beispiel nicht der Meinung, daß die von uns beobachtete Kernstabilisierung hierher gehört, sie ist wahrscheinlich nur ein Modell. Zum Kernpunkt des Effektes dagegen führt vielleicht die zu Ende von Abschnitt II beschriebene Stabilisation der Verbindung der Oberflächenschicht der Zelle mit den tieferliegenden Strukturen. Leider ist diese an anderen Zellen schwer zu untersuchen; wir haben im histologischen Präparat verschiedener Organe (Leber, Herzmuskel, Speicheldrüse) schon die

thermische Ablösung dieser Schicht nicht mehr darstellen können. Dies mag aber an der Beschränkung auf die lichtoptische Methode liegen.

Schon vor Jahren wurde von einem von uns betont, daß hinter der Adstriktion keine einheitliche chemische Reaktion zu stehen braucht. Stabilisation des *Verhaltens* bzw. der Struktur einer Zellschicht kann auf sehr verschiedene Art und Weise erreicht werden: Durch Überdeckung mit einer schützenden und festen Oberflächenschicht; durch den hier beschriebenen, an bestimmten Strukturelementen der Zelle angreifenden Vorgang; durch bestimmte Stoffwechseleffekte usw.

Zusammenfassung.

1. Mit Hilfe einer von Nash angegebenen Methode wird Umfang und Verlauf der Formaldehydbindung an rote Blutzellen bestimmt. Die Bindung ist innerhalb von 10 min vollendet, sie ist nu teilweise reversibel, und die Abhängigkeit der gebundenen Menge von der Aldehydkonzentration weist auf einen uneinheitlichen Bildungspartner in der Zelle hin.

Die gebundene Menge ist mäßig proportional dem Zellvolumen. Sie nimmt mit steigender Wasserstoff-Ionen-Konzentration nur wenig ab.

2. Es wird an Hand von einfachen Versuchen und elektronenoptischen Aufnahmen gezeigt, daß bestimmte Strukturelemente in der Zelle durch Formaldehyd fixiert werden, bevor noch erhebliche Störungen des Stoffwechsels der Zelle nachweisbar sind.

Als Beispiele solcher fixierter Strukturen wird der Zellkern von Hühnererythrocyten sowie ein konkretes Struktur-bestimmendes Element von Säugererythrocyten nachgewiesen. Bei den letzteren läßt sich ferner zeigen, daß die Bindung einer permeabilitätsbestimmenden Oberflächenschicht an die darunter liegenden Zellstrukturen durch Formaldehyd verfestigt wird.

3. Es wird das elektronenoptische Bild von Formaldehyd-fixierten Zellmembranen der roten Blutzellen dem Bild osmiumfixierter Blutzellen gegenübergestellt.

Literatur.

Jung, F.: (1) Klin. Wschr. **1942**, 917. — Jung, F.: (2) Naturwissenschaften **1950**, 229. — Jung, F., H. Matthies u. K. Onnen: (3) Dtsch. Gesundheitswesen **8**, 1562 (1953). — Jung, F.: (4) Dtsch. Gesundheitswesen (im Druck). — Jung, F., u. I. Schwartzkopff: (5) Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **215**, 556 (1952). — Matthies, H.: Verh. dtsch. Pharmakol. Gesellsch. 1953. — Nash, T.: Biochemic. J. **55**, 416 (1953). — Ponder, E.: (1) Hemolysis and rel. Phenomena. New York: Grune & Stratton 1948. — Ponder, R., and E. Ponder: (2) Nature (Lond.) **170**, 928 (1952). — Schubothe, H., u. F. Gross: Schweiz. med. Wschr. **1953**, 1048. — Wallis, L.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (im Druck). — Wilbrandt, W., u. H. U. Wyss: Helvet. physiol. Acta **5**, 457 (1947).

Prof. Dr. F. Jung, Pharmakol. Inst. der Humboldt-Universität, Berlin NW 7, Clara-Zetkin-Straße 96.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 224, S. 193—205 (1955).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Bonn
(Leitung: Prof. Dr. Dr. W. Schulemann).

Toxikologie organischer Quecksilberverbindungen.

Von
Ulrich Hagen.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 22. Juli 1954.)

In der Literatur, die sich mit der experimentellen Pharmakologie und Toxikologie der organischen Quecksilberverbindungen befaßt, finden sich meistens Untersuchungen über ihre Eigenschaften als Diuretica, Chemotherapeutica und Desinfektionsmittel. Daneben werden die organischen Hg-Verbindungen wegen ihrer guten fungiziden Wirkung auch als Beizmittel für Saatgut verwendet. Über die Vergiftungsbilder, die bei der Aufnahme solcher Hg-Verbindungen in den menschlichen Körper entstehen, wurde verhältnismäßig oft schon berichtet[1, 3, 6, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 22, 23, 24]. Im Gegensatz zum anorganischen Quecksilber haben die organischen Quecksilberverbindungen eine gewisse Affinität zum Nervensystem, klinisch überwiegen zentralvervöse Symptome, die Todesursache ist meist ein Hirnödem. Pathologisch anatomisch handelt es sich um eine Kapillargiftwirkung, die auf Grund einer toxischen Gefäßschädigung auch zu degenerativen Veränderungen führt. Erst in einer späteren Phase der Vergiftung treten Symptome auf, die einer Vergiftung mit anorganischem Quecksilber entsprechen; wie Nierenschädigung und eine Reizung des Magen-Darmkanals. Eine eingehende Schilderung findet sich in den Arbeiten von Koelsch, Gulich und Welter.

Die beschriebenen Vergiftungen ereigneten sich meistens bei der „Beizung" von Saatgetreide. Die Wirkstoffe dieser Saatgutbeizen sind organische Hg-Verbindungen, mit denen das Saatgut bestäubt oder benetzt wird, um anhaftende Pilzsporen abzutöten. Bei Anwendung der Trockenbeizen entsteht viel quecksilberhaltiger Staub, der beim Fehlen von geeigneten Schutzmaßnahmen leicht inhaliert werden kann. Die meisten Vergiftungen schienen nun vor allem dadurch hervorgerufen zu sein, daß der Hg-haltige Staub beim Einatmen in die Lunge gelangte und dort resorbiert wurde. Gassner hat 1951 darauf hingewiesen, daß die fungizide Wirkung mancher Saatgutbeizmittel, besonders der Äthyl-Hg-Verbindungen, darauf beruht, daß sie langsam verdampfen und so auch sehr versteckt sitzende Sporen vernichten können, wie z. B. die Spore des Haferflugbrandes. Andere Verbindungen, z. B. die Phenyl-Hg-

Verbindungen, sind fast überhaupt nicht flüchtig, sie müssen in direkten Kontakt mit der Spore kommen.

Es war nun unsicher, ob sich diese Beobachtungen auf das Vergiftungsbild am Menschen übertragen lassen: Verdampfen die organischen Hg-Verbindungen bei der Verstäubung eines Saatgutbeizmittels so rasch, daß sie bei der Inhalation nicht als feste Partikelchen, sondern als Gas in die Lunge gelangen? Diese Frage hatte auch praktisches Interesse: Genügt z. B. zur Vermeidung von Vergiftungen ein bloßer Staubschutz, wie er bisher angewendet wurde?

Die vorliegende Untersuchung beschäftigt sich mit der Art und Möglichkeit einer Resorption der organischen Quecksilberverbindungen bei der Inhalation von Beizmittelstäuben. Es wurden nur Trockenbeizen untersucht.

A. *I. Physikalische und chemische Vorbemerkungen.*

Die organischen Hg-Verbindungen wurden als Wirkstoffe von Saatgutbeizen in den letzten 40 Jahren entwickelt. Neben Verbindungen, bei denen beide Valenzen des Hg an ein organisches Radikal gebunden sind, enthalten die Beizen oft auch sogenannte „halborganische" Verbindungen. Eine Valenz trägt hier ein organisches Radikal, die andere einen anorganischen Säurerest. Diese Bindung kann auch komplexer Natur sein. Aus der Vielfalt der Verbindungen haben sich allmählich einige wenige herausgehoben, die besonders gut wirksam sind und meistens in den üblichen Handelspräparaten enthalten sind.

Für unsere Untersuchungen wählten wir folgende Verbindungen*:

Methyl-Quecksilber-chlorid	
Äthyl-Quecksilber-chlorid	(Präparat A, B, C)
Methoxyäthyl-Quecksilber-silicat	(Präparat D, E)
Phenyl-Quecksilber-brenzkatechin	(Präparat F).

Geprüft haben wir zunächst die reinen Verbindungen und dann auch die Handelspräparate. Zur Übersicht seien die Beizmittelpräparate mit großen Buchstaben bezeichnet.

Methyl-Hg-Cl wird zur Getreidebeizung nicht verwendet, da es zu flüchtig und deshalb zu gefährlich ist. Zum Vergleich mit den anderen, weniger flüchtigen Verbindungen haben wir es aber in unsere Untersuchung mit einbezogen.

Es zeigte sich im Verlauf unserer Versuche, daß drei physikalische Eigenschaften für das Zustandekommen einer Vergiftung besonders wichtig waren Dampfdruck, Löslichkeit in Wasser und Dispersionsgrad der festen Verbindung.

Im folgenden seien diese Eigenschaften für die oben erwähnten Verbindungen etwas näher geschildert, soweit sie uns durch Literatur und eigene Untersuchungen bekannt geworden sind.

1. *Dampfdruck.* Charnley und Skinner maßen den Dampfdruck von Methyl-Hg-Cl und von Äthyl-Hg-Cl mittels der Schwingungs-

* Für die Überlassung der reinen Wirkstoffe sind wir Herrn Prof. Gassner (Braunschweig) und der Firma Bayer (Leverkusen) zu Dank verpflichtet. Die fertigen Saatgutbeizmittelpräparate bezogen wir aus dem Handel.

frequenzen eines Quarzkristalles im Hochvakuum. Äthyl-Hg-Cl ist etwa ebenso flüchtig wie metallisches Quecksilber, der Dampfdruck von Methyl-Hg-Cl ist etwa 10mal größer. Berechnet man aus den gegebenen Daten die Sättigungskonzentrationen in der Luft, so ergeben sich bei verschiedener Temperatur die Kurven der Abb. 1.

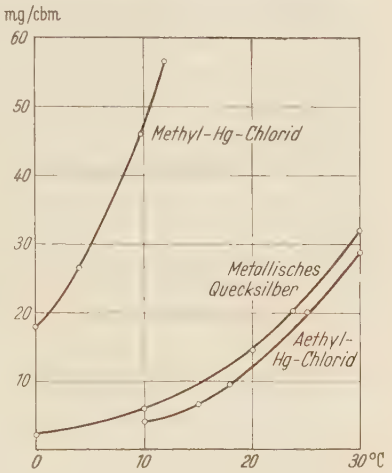


Abb. 1. Konzentration der gesättigten Dämpfe einiger Hg-Verbindungen.

Methoxyäthyl-Hg-silicat ist nach Skinner viel weniger flüchtig als Äthyl-Hg-Cl, und Phenyl-Hg-brenzkatechin wahrscheinlich noch viel weniger. Ähnliches ergeben auch die Erfahrungen, die Gassner bei seinen pflanzenphysiologischen Versuchen sammelte.

Ob freilich in einer gewählten Versuchsanordnung die oben angegebenen Sättigungskonzentrationen tatsächlich vorhanden waren, mußte erst durch einige Versuche festgestellt werden.

2. *Löslichkeit.* Methyl-Hg-Cl und Äthyl-Hg-Cl sind in Wasser nur wenig löslich, eine gute Lösung läßt sich in Äthanoloder Methanol erreichen. Bei unseren Injektionsversuchen lösten wir diese beiden Verbindungen zu 0,5 mg/cm³ in 10%igem Äthylalkohol in physiologischer NaCl-Lösung. Methoxyäthyl-Hg-silicat und Phenyl-brenzkatechin sind in Wasser fast unlöslich. In geringer Menge läßt sich Methoxyäthyl-Hg-silicat in Methanol und Phenyl-Hg-brenzkatechin in Äthylglykol lösen. Zur Injektion verwendeten wir Suspensionen (5 mg/cm³) dieser Stoffe in 5%igem Äthylalkoholin physiologischer NaCl-Lösung.

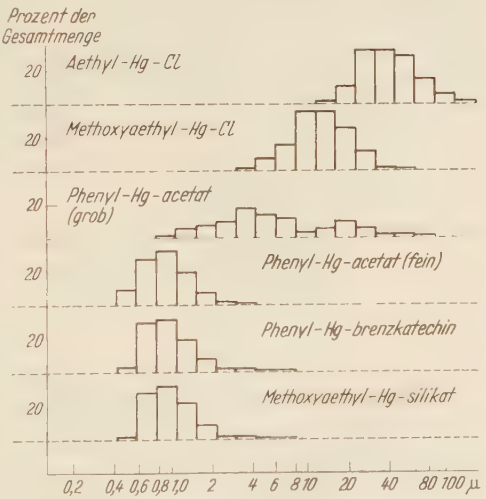


Abb. 2. Teilchengröße einiger Hg-Verbindungen.

3. *Dispersionsgrad.* Methyl-Hg-Cl liegt rein in großen kristallinen Platten vor, deren Durchmesser zwischen 1 und 20 mm beträgt. Die anderen Verbindungen sind für das Auge ein feines Pulver. Bestimmt

man mit dem Okularmikrometer die Teilchengröße, so ergibt sich für die einzelnen Hg-Verbindungen folgendes Bild:

Äthyl-Hg-Cl und Methoxyäthyl-Hg-Cl sind relativ grobkörnig, ihr Teilchendurchmesser beträgt zwischen 15 und 40 μ. Methoxyäthyl-Hg-silicat und Phenyl-Hg-brenzkatechin sind dagegen sehr feinkörnig, die Teilchengröße beträgt um 1 μ. Als Staub haben deshalb die beiden letzten Verbindungen besondere Eigenschaften: Staubteilchen unter 1 μ werden zu den Schwebstoffen gezählt, die sich sehr schwer sedimentieren lassen und die man auch nur mit besonderen Feinstaubfiltern zurückhalten kann. Bei der Inhalation gelangen Staubteilchen unter 3—5 μ in die Alveolen, während gröbere Teilchen schon in den Bronchien und in den Bronchioli hängen bleiben und zum Teil wieder ausgehustet werden (Koelsch).

II. Toxicität der organischen Hg-Verbindungen bei parenteraler Injektion.

Um die Ergebnisse der vorgesehenen Inhalationsversuche mit quecksilberhaltigen Dämpfen besser beurteilen zu können, bestimmten wir zunächst ihre Toxicität bei intraperitonealer Injektion.

Aus der Literatur fand sich nur die DL 50 für Sublimat zu 8 mg/kg Maus bei i.v. Injektion[4]. Unser Versuchsmaterial waren weiße, männliche Mäuse von etwa 20 g Gewicht. Die Quecksilberverbindungen wurden in der oben angegebenen Weise gelöst und intraperitoneal injiziert. Nach dem Versuch wurden die Tiere noch 14 Tage lang beobachtet. Um die schädliche Wirkung des mitinjizierten Alkohols zu bestimmen, wurden in einem Vorversuch 10 Mäusen je 1,0 cm³ 10%iger Äthylalkohol in physiologischer NaCl-Lösung i.p. verabreicht. Außer einer anfänglichen, etwa 3 Std dauernden Benommenheit und Unsicherheit beim Gehen blieben die Tiere die ganze Beobachtungszeit über normal.

Die tödlich wirkende Dosis der einzelnen Verbindungen betrug bei:

Sublimat	8 mg/kg
Methyl-Hg-Chlorid . . .	20 mg/kg
Äthyl-Hg-Chlorid	20 mg/kg
Methoxyäthyl-Hg-silicat .	50 mg/kg
Phenyl-Hg-brenzkatechin	50—100 mg/kg

B. *I. Chemisches und physikalisches Verhalten der Dämpfe organischer Quecksilberverbindungen.*

Die eingangs gestellte Frage nach der Wirkung der Hg-Verbindungen in gasförmigem Zustand ließ sich am besten durch einen Inhalationsversuch an den gesättigten Dämpfen der Verbindungen beantworten.

Es bestand zunächst die Aufgabe, eine strömende Luft gleichmäßig mit der zu prüfenden Verbindung teilweise oder vollständig zu sättigen. Für den Verdampfungsvorgang mußte einmal eine genügend große Oberfläche und ferner auch genügend Zeit zur Verfügung stehen. Bei der Versuchsanordnung, die Kuhn u. Massini zur Dampfdruckbestimmung des DDT verwendeten, schien uns dies

erfüllt. Sie vermischten DDT und Quarz, gaben diese Mischung in ein langes Glasrohr. Aus der Teilchengröße des DDT berechneten sie die Oberfläche, die für den Verdampfungsvorgang zur Verfügung stand, zu etwa 10 m². Bei langsamer Durchströmung und bei genügend hoher Temperatur (50° C) ließ sich die austretende Luft nahezu sättigen. DDT ist viel weniger flüchtig als etwa Äthyl-Hg-Cl; es war deshalb zu erwarten, daß sich bei einer ähnlichen Versuchsanordnung ein Luftstrom mit Methyl-Hg-Cl und mit Äthyl-Hg-Cl sättigen ließe.

237,5 g gereinigter Quarz wurden mit 12,5 g der zu prüfenden Verbindung 3—4 Std in einer Kugelmühle gemahlen und dadurch innig miteinander vermischt. Diese Wirkstoffmischung gaben wir in ein weites U-Rohr, das in ein Wasserbad von +80° eintauchte. Ein kurzes, weites Glasrohr von etwa 10 mm lichte Weite führte in den Versuchsraum. In dem 1 Liter fassenden Gefäß hatten 3—4 Mäuse bequem Platz, ohne an Luftnot oder Raummangel zu leiden. Durch dieses System leiteten wir langsam Luft hindurch. Die Geschwindigkeit wurde mit einem Differentialmanometer gemessen und betrug bei allen Versuchen 0,15 l/min.

Zweitens mußte dann die tatsächlich angewendete Konzentration der organischen Hg-Verbindungen in dem Versuchsraum bestimmt werden. Unsere Bestimmungsmethode gründete sich auf die Beobachtung, daß Diphenylcarbazon, das Reagens auf $HgCl_2$ nach Stock, auch mit allen uns zur Verfügung stehenden organischen Quecksilberverbindungen eine violette Farbreaktion gibt. In 10%igem wäßrigem Methanol gelöst, lassen sich noch Mengen von 5 γ/cm³ gut nachweisen.

Die Methodik der quantitativen Mikrobestimmung aus der Luft ist an anderer Stelle eingehend beschrieben[7]. Das Prinzip war etwa folgendes:

Statt des Versuchsraumes wurde eine Kühlfalle (—20°) gesetzt. In dieser kondensierte sich die flüchtige Quecksilberverbindung, die aus der erwähnten Wirkstoffmischung verdampft und durch den Luftstrom mitgeführt worden war. Die Kühlfalle wurde mit Methanol (bei Phenyl-Hg-brenzkatechin mit Äthylglycol) ausgewaschen und auf das 10fache des Volumens mit H_2O verdünnt. Nach Zugabe von Diphenylcarbazon wurde die auftretende Färbung colorimetrisch mit einer Stammlösung verglichen und so ihr Gehalt an der organischen Quecksilberverbindung ermittelt. Aus der Menge der durchgeströmten Luft ließ sich dann die Konzentration an flüchtiger Hg-Verbindung berechnen.

Wir bestimmten damit die Konzentration, die bei den einzelnen Quecksilberverbindungen in der Luft des Versuchsraumes auftraten: Bei jedem Präparat wurden 4 Analysen durchgeführt.

Methyl-Hg-Chlorid	etwa 80 mg/m³
Äthyl-Hg-Chlorid	etwa 17 mg/m³
Methoxyäthyl-Hg-silicat	etwa 1 mg/m³
Phenyl-Hg-brenzkatechin	unter 1 mg/m³

Ferner zeigten unsere Bestimmungen, daß die Dämpfe der organischen Quecksilberverbindungen sich sehr leicht an feste Oberflächen adsorbieren. Schaltet man nämlich zwischen der Wirkstoffmischung und der Kühlfalle ein langes Glasrohr oder einen Gummischlauch, so sinkt beim Äthyl-Hg-Cl und besonders auch beim Methyl-Hg-Cl die Hg-Konzentration der Luft um so mehr, je länger das Zwischenstück ist. Die Konzentration dieser Dämpfe kann also nicht aus physikalischen Daten berechnet werden, sie muß jeweils mittels chemischer Methoden bestimmt werden.

II. Inhalation der Wirkstoffe im Strömungsversuch.

Der Inhalation dieser Dämpfe wurden weiße Mäuse von etwa 20 g Gewicht ausgesetzt. Nach dem Versuch wurden sie noch 14 Tage lang beobachtet. Die tödlich wirkende Inhalationszeit, die sich aus dem Verhalten von je 30 Tieren ergab, betrug bei den einzelnen Verbindungen:

Phenyl-Hg-brenzkatechin	1,2 Std
Methoxyäthyl-Hg-silicat	1,25 Std
Methyl-Hg-Chlorid	4 Std
Äthyl-Hg-Chlorid	über 160 Std.

Beim Äthyl-Hg-Chlorid beobachteten wir nach 160 Std Inhalation noch keine deutlichen Vergiftungserscheinungen, lediglich in den Nieren von einigen Tieren war histologisch ein Parenchymschaden im Sinne einer toxischen Nephrose festzustellen. Die tödlich wirkende Inhalationszeit war also sicher viel höher als 160 Std.

Zu diesen Ergebnissen sei bemerkt:

Bei einem Vergleich der Wirkung der Dämpfe von Methyl-Hg-Cl und von Äthyl-Hg-Cl muß man berücksichtigen, daß es sich bei dem Methyl-Hg-Cl um einen akuten Versuch handelte, beim Äthyl-Hg-Cl aber mehr um einen chronischen. Die 160 Std dauernde Inhalation war über 4 Wochen (20mal 8 Std) verteilt. Die Konzentration des Methyl-Hg-Cl war etwa 4mal so groß als die des Äthyl-Hg-Cl. Man hätte erwarten können, daß eine tödliche Vergiftung durch Äthyl-Hg-Cl-Dampf in der 4fachen Zeit eintreten würde. Durch die Zwischenpausen stand jedoch immer wieder Zeit zur Erholung zu Verfügung. Es ist wahrscheinlich, daß in diesen Zwischenzeiten das Äthyl-Hg-Cl wieder aus der Lunge ausgeatmet wurde. Ähnliches beobachteten auch Stock u. Zimmermann bei Inhalationsversuchen mit Quecksilberdämpfen.

Nicht erklärt werden konnte durch diese Versuche die starke toxische Wirkung, die vom Methoxyäthyl-Hg-silicat und vom Phenyl-Hg-brenzkatechin ausging; zumal unsere Analysen bei ihnen keine dampfförmige Quecksilberverbindung feststellen konnten. Weitere Versuche wurden deshalb auf die Klärung dieser unbekannten Giftwirkung gerichtet:

Es war zunächst klarzustellen, ob in diesen beiden Substanzen eine flüchtige Verunreinigung vorlag, die mit dieser Giftwirkung in Zusammenhang zu bringen war. Ein chemischer Nachweis auf Halogenverbindungen oder auf ungesättigte Kohlenwasserstoffe ergab beide Male einen negativen Befund. Ferner versuchten wir festzustellen, ob diese toxische Wirkung durch eine Kühlfalle aufzuhalten wäre:

Zwischen der Wirkstoffmischung und dem Tierraum wurde ein kleines U-Rohr angebracht, das mit grobkörnigem Quarz (zur Vergrößerung der Kühlfläche) gefüllt war. Das U-Rohr wurde in eine Kältemischung getaucht; die Luft kühlte sich somit auf dem Wege von der Wirkstoffmischung zum Tierraum auf die Temperatur der Kältemischung ab (0° und —40°).

Eine Abnahme der toxischen Wirkung durch die Kühlung beobachteten wir jedoch bei Inhalationsversuchen an Mäusen nicht.

Um eine Verunreinigung noch weiter auszuschließen, versetzten wir 100 g einer 5%igen Methoxyäthyl-Hg-silicat-Quarzmischung mit 1000 cm³ 10%igem Äthylalkohol und schüttelten diese Suspension 5 Std lang. Anschließend wurde das Lösungsmittel abdestilliert und der Rückstand getrocknet. Wir nahmen dabei an, daß eine eventuell flüchtige Verunreinigung in das Destillat übergehen werde. Bei Prüfung des Rückstandes im Inhalationsversuch ergab sich jedoch die gleiche Toxicität wie vorher, die tödlich wirkende Inhalationszeit betrug wiederum 1,25 Std.

Unsere verschiedenen Versuche hatten also immer wieder gezeigt, daß die Giftwirkung des Phenyl-Hg-brenzkatechins und des Methoxyäthyl-Hg-silicates bei der Verbindung selbst zu suchen ist und nicht bei irgendwelchen Verunreinigungen oder zufälligen Nebenwirkungen. Dies war die Veranlassung, neben der chemischen Untersuchung auch die morphologische Struktur dieser Quecksilberverbindungen zu betrachten.

Berücksichtigt man die Tatsache, daß Methoxyäthyl-Hg-silicat und Phenyl-Hg-brenzkatechin Feinstaubverbindungen sind, so lassen sich die beobachteten Wirkungen erklären. Trotz der relativ langsamen Durchströmungsgeschwindigkeit (0,15 l/min) muß man hier annehmen, daß der Luftstrom aus der Quarzmischung diese feinsten Teilchen mitriß und in den Versuchsraum brachte. Es ist deshalb auch verständlich, daß unsere Kühlfalle kein Quecksilber adsorbierte: Staub läßt sich nicht durch tiefe Temperaturen niederschlagen.

Ein weiterer Beweis, daß es sich nur um eine Feinstaubvergiftung handelte, ergab sich aus folgendem Veruch:

Zwischen der Methoxyäthyl-Hg-silicat-Mischung und dem Tierraum wurde das Feinstaubfilter „Dräger 545, df 90" eingesetzt. Dieser Feinstaubfilter hält nach Angaben der Firma auch die feinsten Stäube zurück, nicht aber gasförmige Verbindungen: Nach einer Inhalation von insgesamt 30 Std zeigten 8 Mäuse hinter einem solchen Feinstaubfilter keinerlei Vergiftungserscheinungen, sie waren also durch diesen Filter vor der 25fachen tödlichen Dosis geschützt.

Die Toxicität einer organischen Hg-Verbindung schien also in unseren Versuchen neben ihrer Flüchtigkeit auch durch die Teilchengröße bedingt zu sein. Demnach müßte eine beliebige Quecksilberverbindung eine ganz verschiedene Giftwirkung aufweisen, je nachdem sie als Feinstaub oder als grobkörniger Staub vorliegt. Die Firma Bayer-Leverkusen stellte uns liebenswürdigerweise zur Prüfung dieser Fragestellung das fast unlösliche und sehr wenig flüchtige Phenylquecksilberacetat in 2 Proben zur Verfügung. Die eine war relativ grobkörnig, so wie diese Verbindung bei der Präparation anfällt, zwischen 2 und 40 μ.

Die andere Probe war mit Spezialmühlen bis auf eine Größe von 0,6 bis 1,2 μ gemahlen; war also genau so fein, wie das Phenyl-Hg-brenzkatechin und das Methoxyäthyl-Hg-silicat (siehe Abb. 2).

Bei der Durchströmung der Quarzmischung dieser beiden Proben zeigten die Versuchstiere (Mäuse) im Tierraum folgendes Verhalten:

Phenyl-Hg-acetat fein . . . Tod nach etwa 1stündiger Inhalation
Phenyl-Hg-acetat grob. . . Keine Vergiftungserscheinungen nach 30stündiger Inhalation.

Bei der gleichen Versuchsanordnung war also der Feinstaub über 30mal so giftig als die grobkörnige Form der gleichen Verbindung.

Wir können also folgendes aussagen: Die Gefahr einer akuten Vergiftung durch Inhalation von Methylquecksilberchloriddampf ist außerordentlich hoch. Als Saatgutbeizmittel wird Methyl-Hg-Cl daher nicht verwendet. Äthylquecksilberchlorid ist viel weniger flüchtig; erst längere Einatmung des gesättigten Dampfes über Wochen hinaus führt zu einer chronischen Vergiftung.

Beim Methoxyäthyl-quecksilbersilicat wie beim Phenyl-quecksilberbrenzkatechin ist die Möglichkeit einer Vergiftung durch Inhalation in Dampfform nicht gegeben, da beide praktisch unverdampfbar sind. Sie sind aber außerordentlich fein dispers und verstäuben sehr leicht. Dadurch können sie unter bestimmten Bedingungen außerordentlich giftig werden.

Aus diesen Ergebnissen entstand weiter die Frage, ob bei der Anwendung der fertigen Saatgutbeizmittel in der Landwirtschaft ähnliche Verhältnisse auftreten, wie im Tierversuch mit den reinen Wirkstoffen. Diese Frage war wichtig aus gewerbemedizinischen Gründen. Es wurden deshalb Versuchsanordnungen ausgewählt, die es gestatteten, die Inhalation von Beizmittelstäuben unter verschiedenen Bedingungen zu beobachten.

C. *I. Toxicität der Beizmittelstäube.*

Wir untersuchten die toxische Wirkung von Staub-Luftgemischen bei 4 Beizmitteln unter verschiedenen Bedingungen:

1. Wenn die Versuchstiere diese Luft ungeschützt einatmen (Staubinhalation),

2. Wenn die Versuchstiere diese Luft hinter einem dichten Wattefilter einatmen,

3. Wenn die Versuchstiere durch ein Wattefilter sowie durch ein Kohlefilter vor dem Staub geschützt waren.

Wegen Einzelheiten der Methodik sei auf Hagen[7] verwiesen. Das Prinzip unserer Versuchsanordnung war folgendes: Staubhaltige Luft bekannter Konzentration wurde durch 3 hintereinandergeschaltete Versuchsräume geleitet. Zwischen dem 1. und 2. Raum befand sich ein dichtes Wattefilter, zwischen dem 2. und

3. Raum ein Filter, das mit aktiver Kohle gefüllt war. So waren die oben angegebenen Bedingungen erfüllt. Geprüft haben wir die Präparate A, D, E und F.

Die verschieden gute Verstäubbarkeit der einzelnen Präparate brachte es mit sich, daß im ersten Versuchsraum (Staubinhalation) sehr verschiedene Staubkonzentrationen vorhanden waren. Bei unseren Versuchen fanden wir die Werte:

Präparat A (Äthyl-Hg-Chlorid) . . . . . 800 mg/m³
Präparat D (Methoxyäthyl-Hg-silicat) . . . 1200 mg/m³
Präparat E (Methoxyäthyl-Hg-silicat) . . . 50 mg/m³
Präparat F (Phenyl-Hg-brenzkatechin). . . 80 mg/m³.

Die Schwankungen der Konzentration an den einzelnen Versuchstagen blieben in mäßigen Grenzen ($\pm$ 20%).

Wir verglichen deshalb die Wirkung der einzelnen Beizmittelstäube bei verschiedener Konzentration, aber sonst gleichen Bedingungen (Strömungsgeschwindigkeit und andere). Die Versuchstiere waren weiße, männliche Mäuse von etwa 20 g Gewicht. Die Beobachtungszeit betrug wiederum 14 Tage.

Bei der *Staubinhalation* betrug die mittlere tödliche Inhalationszeit, ermittelt aus dem Verhalten von je 10 Tieren, bei

A: 12 Stunden
D: 6 Stunden
E: 14 Stunden
F: 12 Stunden.

Um die unterschiedliche Staubkonzentration bei den verschiedenen Beizen mitzuberücksichtigen, sei für einen Vergleich das in der Toxikologie übliche „c.t"-Produkt aufgestellt. „t" sei hier die Inhalationszeit in Minuten und „c" die Staubkonzentration.

Präparat A (Äthyl-Hg-chlorid) . . . . . 58 $\cdot 10^{-5}$
Präparat D (Methoxyäthyl-Hg-silicat) . . 43 $\cdot 10^{-5}$
Präparat E (Methoxyäthyl-Hg-silicat) . . $4{,}2 \cdot 10^{-5}$
Präparat F (Phenyl-Hg-brenzkatechin). . $5{,}8 \cdot 10^{-5}$.

Das heißt also: Das Phenyl-Hg-brenzkatechin-Präparat (F) und ein Methoxyäthyl-Hg-silicat-Präparat (E) ist als Staub etwa 10mal so giftig als das andere Methoxyäthyl-Hg-silicat-Präparat (D) und das Äthyl-Hg-Cl-Präparat (A).

Hinter einem dichten *Wattefilter* werden die Versuchstiere bei der Einatmung dieser beiden giftigen Präparate E und F fast ebenso schnell getötet, als wenn sie ungeschützt die staubhaltige Luft einatmeten. Hier war also der Feinstaub glatt durch das Filter hindurchgegangen. Bei A und D wurden dagegen hinter dem Wattefilter keine ausgeprägten Vergiftungserscheinungen beobachtet. Hinter einem *Kohlefilter* zeigten die Tiere bei Prüfung von E und F keine Vergiftungssymptome nach 60stündiger Inhalation.

Neben Mäusen setzten wir auch einige Male Ratten der Staubinhalation aus. Diese sind etwas weniger empfindlich. Die tödlich wirkende Inhalationszeit ist etwa doppelt so groß.

Man kann daraus schließen: Bei der Verstäubung von Saatgutbeizmitteln entsteht quecksilberhaltiger Staub. Eine Verdampfung der Quecksilberverbindung tritt dabei praktisch bei keiner der geprüften Substanzen auf, so daß eine Vergiftung durch Inhalation des Dampfes nicht möglich ist.

Es hat sich jedoch ergeben, daß die einzelnen Beizmittelstäube außerordentlich verschieden gefährlich werden können. Phenyl-Hg-brenzkatechin und Methoxyäthyl-Hg-silicat sind sehr fein dispers, die entsprechenden Präparate F und E sind als Staub viel giftiger als etwa das Äthyl-Hg-Chlorid-Präparat (A). Zum Teil ist dies durch ein etwas anderes Vergiftungsbild begründet (vgl. unten). Bei Anwendung dieser beiden Präparate muß man also einen besonders guten Staubschutz mit Hochleistungsfeinstaubfiltern verlangen; ein einfaches Wattefilter vermag den Staub nicht zurückzuhalten.

Wir vermuten, daß die viel geringere Giftigkeit des Beizmittels D darauf beruht, daß der Wirkstoff hier durch ein Bindemittel zu größeren Konglomeraten zusammengeballt ist und deshalb einen grobkörnigen Staub bildet wie etwa das Äthyl-Hg-Chlorid im Präparat A.

II. Vergiftungsbilder und pathologisch-anatomische Befunde.

Die Giftwirkung der organischen Quecksilberverbindungen ist nach Auffassung der meisten Autoren eine zweiphasische. Zuerst wirkt das Molekül im ganzen; wir finden hier hauptsächlich eine zentralnervöse Schädigung. Später, nach 2—4 Tagen, wird es vom Organismus abgebaut und wir haben es mit der Wirkung des anorganischen Quecksilbers zu tun.

Unterschiede zwischen den Vergiftungsbildern der einzelnen Hg-Verbindungen haben wir nicht gefunden. Es ergaben sich aber solche bei verschiedenartiger Resorption der Hg-Verbindungen. Folgende Applikationsarten gelangten zur Anwendung:

1. Intraperitoneale Injektion (alle Verbindungen)
2. Inhalation der gesättigten Dämpfe (Methyl-Hg-Cl und Äthyl-Hg-Cl)
3. Inhalation von grobkörnigem Staub (Präparat A und D)
4. Inhalation von Feinstaub (Methoxyäthyl-Hg-silicat, Phenyl-Hg-brenzkatechin, Präparat E und F).

Die ersten drei verursachten ein sehr ähnliches Bild, wenn man von leichteren Reizsymptomen der Atemwege bei der Inhalation von grobkörnigem Staub absieht.

Die Tiere (Mäuse) zeigten eine deutliche Gewichtsabnahme, waren im ganzen matt und bewegungsunlustig. Ihr Gang war unsicher und hochbeinig. Sie waren zeitweise unruhig und schreckhaft. Bei manchen Tieren beobachteten wir einen feinen Intentionstremor. Bei der Verabreichung der Dosis letalis minima begann nach 2—3 Tagen ein somnolentes

Stadium, in dem die Tiere nach kurzer Zeit zugrunde gingen. Bei höheren Dosen trat der Tod schon nach wenigen Stunden ein.

Bei der Dampfinhalation von Methyl-Hg-Cl beobachteten wir nach 2—3 Std eine Schwellung und Rötung der Schnauze und der Konjunktiven. Sobald die Tiere aus dem Versuch herausgenommen wurden, begann diese Erscheinung wieder abzuklingen.

Bei Ratten war die zentralnervöse Schädigung deutlicher zu sehen. Sie äußerte sich vor allem in einer größeren Krampfbereitschaft als bei den Mäusen. Der Tremor, der an den Extremitäten begann und später auch den ganzen Körper betraf, ging über in gröbere klonische und tonische Krämpfe.

Die Sektion (bei Mäusen wie bei Ratten) zeigte folgendes: Im Thorax finden sich keine besonderen pathologischen Veränderungen. Bei der Eröffnung des Bauchraumes sieht man den ganzen Dick- und Dünndarm gerötet, die Bauchlymphdrüsen sind vergrößert und gerötet. Die Milz ist zuweilen vergrößert und blutreich. Die Leber ist relativ blaß, bisweilen gelblich, fleckig verfärbt, mit Injektion der peripheren Blutgefäße. Im histologischen Schnitt sind Anzeichen degenerativer Verfettung in den Parenchymzellen zu sehen. Es muß aber betont werden, daß sich in manchen Fällen auch ein völlig normaler Befund zeigen kann.

Die Niere zeigt im makroskopischen Schnitt eine deutliche Rötung des Markes; nur wenn der Tod schon nach wenigen Stunden erfolgt ist, fehlt diese. Unter dem Mikroskop erkennt man Ödem und Hyperämie im ganzen Organ. Plasmaaustritte aus den Zellen in die Tubuli und in die Kapseln weisen auf eine schwere toxische Kapillarschädigung hin. In den Tubuli recti finden sich bisweilen schollige Ablagerungen im Sinne einer Sublimatniere. Das Gehirn ist bei der Eröffnung weich und sulzig, im makroskopischen Schnitt zeigen sich verhältnismäßig weite Ventrikel. Im histologischen Präparat sieht man ein ödematöses, aufgelockertes Gewebe. Blutaustritte in die Ventrikel werden beobachtet. Das ganze Bild spricht für eine toxische Schädigung der Kapillaren und der Zellwände.

Dieses Hirnödem darf man wohl als die eigentliche Todesursache auffassen. Daneben besteht eine schwere toxische Nephrose und eine Reizung des gesamten Magen-Darmtraktes, bedingt durch die Kapillargiftwirkung der Quecksilberverbindung. Anhaltspunkte für eine direkte Schädigung der Leberparenchymzellen boten sich in geringem Maße, wir sahen dann eine leichte degenerative Verfettung der Zellen.

Bei der 4. Applikationsart, der *Feinstaubinhalation*, zeigen Mäuse ein charakteristisches Vergiftungsbild, das sich etwa in 2—3 Tagen abspielt. Die Tiere werden matt und müde und leiden in zunehmendem Maße an Atemnot. Im Endstadium sind sie somnolent, zeigen eine Schnappatmung und reagieren nicht mehr auf äußere Reize. Der Tod erfolgt durch Atemlähmung.

Die Sektion zeigt eine dunkelrote, blutgefüllte *Lunge*. Im histologischen Bild sieht man die Alveolen voller Erythrocyten und Plasmaexsudat. Im ganzen bietet sich das Bild eines schweren hämorrhagischen Ödems der ganzen Lunge.

Im Gehirn findet sich ein geringes Zellödem mit vereinzelten Blutaustritten in Gewebe. Die Leber ist groß, dunkelrot und blutgefüllt. Die Leberparenchymzellen

zeigen im allgemeinen keine Anzeichen einer toxischen Schädigung. Die Milz ist meist von normaler Größe, der Magendarm-Kanal und die Bauchlymphdrüsen zeigen nur gelegentlich eine entzündliche Reizung; an den Nieren findet sich nur dann eine toxische Schädigung, wenn das Tier den 3. oder den 4. Tag überlebt hat.

Die Ätiologie dieser Vergiftung läßt sich folgendermaßen erklären: Die feinen Teilchen des Phenyl-Hg-brenzkatechins oder des Methoxyäthyl-Hg-silicates gelangen in die Alveole und bleiben in dieser haften. Da sie nur sehr wenig löslich sind, können sie nur langsam resorbiert werden. Dagegen vermögen sie das Alveolenepithel direkt zu schädigen und es kommt zum Austritt von Exsudat und Erythrocyten. Das zunehmende Lungenödem bewirkt dann weiter ein Versagen des ganzen Kreislaufes. Die Stauung der Leber gehört mit zu diesem Bild. Daneben finden wir auch die Wirkungen der resorbierten Hg-Verbindung. Die Veränderungen im Gehirn und im Nierenparenchym werden durch sie verursacht. Daß nur Mäuse dieses Vergiftungsbild zeigen, ist villeicht durch besondere anatomische und histologische Eigentümlichkeiten ihres Organismus begründet.

Die pathologisch-anatomischen Veränderungen bei den Vergiftungen mit den organischen Hg-Verbindungen lassen sich zusammenfassen: Die eigentliche Todesursache ist ein Hirnödem auf Grund toxischer Gefäßschädigung. Diese Kapillargiftwirkung äußert sich ferner noch in einer Schädigung der Nierenparenchymzellen: in geringem Maße auch in einem leichten Leberschaden. In einer späteren Phase treten die Erscheinungen des anorganischen Quecksilbers auf; eine Reizung des Magen-Darmkanals und Veränderungen im Sinne einer Sublimatniere werden beobachtet.

Daneben zeigen bei der Inhalation von quecksilberhaltigem Feinstaub Mäuse noch ein besonderes Verhalten. Es kommt zu einem schweren hämorrhagischen Lungenödem, das Herz und Kreislauf zum Versagen bringt.

Zusammenfassung.

Organische Quecksilberverbindungen, die als Wirkstoffe in Saatgutbeizmitteln verwendet werden, wurden toxikologisch untersucht. Ihre Giftigkeit bei parenteraler Injektion sowie bei Inhalation der gesättigten Dämpfe wurde ermittelt. Ferner wurde die Möglichkeit untersucht, inwieweit bei Verstäubung der Beizmittel neben dem quecksilberhaltigen Staub der Wirkstoff als Gas auftreten kann. Über die geprüften Verbindungen lassen sich folgende Aussagen machen: Methyl-quecksilberchlorid ist sehr flüchtig. Seine Anwendung als Saatgutbeizmittel ist verboten, da es dabei sehr leicht zu einer acuten Inhalationsvergiftung kommen kann.

Äthyl-quecksilberchlorid verdampft nicht so leicht; erst eine längere Einatmung des gesättigten Dampfes führt zu einer chronischen Vergiftung. Bei der Verstäubung eines Äthyl-Hg-Cl-haltigen Saatgutbeiz-

mittels konnten jedoch in der Luft keine toxischen Mengen der gasförmigen Verbindung nachgewiesen werden.

Methoxyäthyl-quecksilber-silicat und Phenyl-quecksilber-brenzkatechin sind beide praktisch unverdampfbar. Sie sind aber beide sehr fein dispers und verstäuben sehr leicht. Charakteristische Feinstaubvergiftungen werden beobachtet. Bei der Anwendung dieser Verbindungen muß vom gewerbemedizinischen Standpunkt aus ein besonders guter Staubschutz verlangt werden.

Literatur.

[1] Ahlmark, A.: Brit. J. Industr. Med. **5**, 117 (1948). — [2] Charnley, T., and H. A. Skinner: J. Chem. Soc. (Lond.) **1951**, 1921. — [3] Edwards, E. M.: Vet. Rec. **54**, 5 (1942). — [4] Flury, F., u. F. Zernik: Aus Abderhalden, Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, IV, 7, B. S. 1289ff. [5] Gassner, G.: Nachrichtenblatt d. deutschen Pflanzenschutzdienstes **3**, 113 (1951). — [6] Gulich, E. S.: Diss. Erlangen 1948. — [7] Hagen, U.: Diss. Bonn 1953. — [8] Hepp, P.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **23**, 91 (1887). — [9] Hill, W. H.: J. Ind. Hyg. **22**, 297 (1940). — [10] Hunter, B., R. Bonford and D. S. Russel: J. of Med. **9**, 193 (1940). — [11] Janson, P.: Med. Welt **1929**, 49. — [12] Koelsch, F.: Arch. Gewerbepath. u. Hyg. **8**, 113 (1938). - [13] Koelsch, F.: Volume Atti des Convegno Internationale Milano Giugo 1950. — [14] Kuhn, W., u. P. Massini: Helvet. chim. Acta **32**, 1530 (1949). — [15] Lundgreen, K. D., and A. Swensson: J. Ind. Hyg. **31**, 190 (1949). — [16] McCord, C. P., S. F. Meek and P. A. Neal: J. Ind. Hyg. **23**, 466 (1941). — [17] Schulte, H. F.: J. Ind. Hyg. **28**, 159 (1946). — [18] Skinner, H. A.: Briefliche private Mitteilung. — [19] Stock, A., u. S. Pohland: Z. angew. Chem. **39**, 791 (1926). — [20] Stock, A., u. R. Zimmermann: Biochem. Z. **216**, 243 (1929). — [21] Veilchenblau, H.: Münch. med. Wschr. **1932**, 432. — [22] Vintinner, A.: J. Ind. Hyg. **22**, 297 (1940). — [23] Welter, A.: Diss. München 1949. — [24] Zeyer, H. G.: Zbl. Arbeitsmed. u. Arbeitsschutz **2**, 68 (1952).

Dr. U. Hagen, Heiligenberg (Baden), Heiligenberg-Institut.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 224, S. 206—223 (1955).

Aus den wissenschaftlichen Laboratorien der Ciba Aktiengesellschaft Basel.

Pharmakodynamische Bedeutung der Zell-Stoffwechselwirkung „cytotoxischer" Stoffe.

Von

R. Meier, W. Schuler und R. Krueger.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 10. September 1954.)

Hinsichtlich der Charakterisierung lokal reizender und zellschädigender Wirkungen haben die Arbeiten von Heubner[14, 15] in überzeugender Weise dargetan, daß „gewebsschädigende und reizende" Wirkungen in eine Reihe gut definierter Untergruppen zu unterteilen sind, bei deren Differenzierung der Angriffspunkt, d. h. die Wirkung auf bestimmte einzelne oder bestimmte mehrere Zellelemente das entscheidende Moment darstellt. Es kann an der Berechtigung dieser Einteilung kein Zweifel bestehen.

Um den Ursachen dieser oder auch einer andersartigen Differenzierung solcher Wirkungen näherzukommen, wurden verschiedentlich Untersuchungen über das Verhalten von der Wirkung betroffener isolierter Zellen usw. durchgeführt. Der eine[17] von uns hat hierfür unter anderem die Untersuchung der Stoffwechselwirkung an Blutkörperchen, tierischen Zellen und Hefe herangezogen und gezeigt, daß unter den „gewebsschädigenden" Stoffen Gruppen mit verschiedenem Stoffwechselwirkungstypus festzustellen sind. So konnte z. B. gezeigt werden, daß arsenige Säure, Phenol sowie eine Reihe von Reizstoffen, wie Senföl, Chlorpikrin und ähnliche, in eine Wirkungsgruppe zusammengehören, da sie entsprechend der von Warburg eingeführten Nomenklatur einen mehr blausäureähnlichen Wirkungstypus besitzen. Gewebsschädigende Wirkstoffe wie z. B. Chromat, Quecksilber, Blei gehören eher in die Gruppe mit fluoridähnlichem Wirkungstypus, während Silber wieder einen von diesem abtrennbaren Typus darstellt.

Die Charakterisierungsversuche derartiger Wirkungen sind in den letzten Jahren in verschiedener Richtung ausgedehnt worden.

Es wurden zahlreiche Untersuchungen mit Reizstoffen und besonders cytotoxischen Stoffen hinsichtlich ihrer Wirkung auf Fermente durchgeführt. Besonders für einzelne Stoffgruppen wurde wichtiges Material beigebracht, das besonders klar zeigt, daß „zellschädigende" Stoffe, die häufig auch chemisch sehr reaktionsfähige Stoffe sind, mit reaktiven Elementen der Gewebe, z. B. Fermenten oder anderen labilen Gruppen in vielseitiger Weise zu reagieren vermögen[1, 2, 3, 4, 13, 16, 19].

Weiterhin sind erneut Untersuchungen hinsichtlich der Stoffwechselwirkung an intakten Zellen in verschiedener Richtung herangezogen worden, so z. B. von Fleckenstein[5, 6, 7, 8] und Haas[9, 10, 11, 12] c. s., mit der Absicht, den Wirkungstypus in erweiterter Weise zu charakterisieren und, wenn möglich, einen besseren und exakteren Zusammenhang zwischen derartigen Stoffwechselphänomenen und den Wirkungen auf Zellen und Funktionen des tierischen Substrates zu finden.

Es soll in dieser Arbeit nicht unsere Aufgabe sein, neue Befunde über die direkte Beziehung von Stoffwechselwirkungen mit den Wirkungen am Gewebe im tierischen Organismus beizubringen, trotzdem möchten wir einige Überlegungen anführen, um zu zeigen, daß derartige „Analogieuntersuchungen" nur in besonderen Fällen Resultate liefern können, die von einem Versuchsobjekt auf bestimmte andersgeartete Verhältnisse direkt übertragbar sind. Es muß wohl, wie bei allen anderen pharmakologischen Wirkungen, verlangt werden, in Übereinstimmung mit analogen Erwägungen von Heubner, daß eine an beliebigen Zellen aufgefundene Wirkung auf einen Stoffwechsel- oder anderen Vorgang erst dann als Ursache von Wirkungen, wie sie im tierischen Organismus auftreten, angenommen werden kann, wenn tatsächlich auch an denjenigen Zellen, die im tierischen Organismus von dieser Wirkung direkt verändert werden, nachgewiesen wird, daß der verändert gefundene Vorgang wirklich die Ursache der eingetretenen Gewebsreaktion ist. Es scheint uns, daß in dieser Hinsicht der Zusammenhang zwischen den bisher festgestellten Wirkungen am Stoffwechsel der isolierten Zelle, sei es nun an Hefezellen, Haut oder Leber usw., doch nur ein lockerer ist, auch dann, wenn angenommen werden soll, daß die Wirkungen auf das „Gewebe" indirekt die Ursache der Wirkung z. B. auf Nervenelemente und Capillaren sind. Zwischen diesen beiden wäre wiederum zu differenzieren, aber dies wäre nur dadurch möglich, daß der Zusammenhang der vorhandenen Phänomene an den direkt betroffenen Objekten des tierischen Gewebes als direkte oder indirekte Wirkungsfolge aufgeklärt würde. Die Schwierigkeit der Übertragung der Befunde bliebe davon unberührt. Wir möchten aber zu diesen Fragen im einzelnen nicht weiter Stellung nehmen.

Ein anderes Problem kann aber in klarer Weise auch mit Hilfe von „modellartigen Zellreaktionen" beantwortet werden, nämlich ob die auf Grund gewisser pharmakologischer Wirkungen als ähnlich angesehenen Stoffe tatsächlich in gesetzmäßiger Weise an Hand solcher Effekte an einfachen „Modellen", z. B. an Hefe, zusammengefaßt werden können. Die Beantwortung der folgenden Fragen schien uns hierfür von besonderem Interesse. 1. Ist es möglich, bei der Untersuchung einer größeren Reihe von sogenannten gewebsschädigenden oder zellreizenden Stoffen noch weitere Wirkungstypen aufzustellen, die von den bisher bekannten abweichen, und ist diesen vielleicht noch besondere Bedeutung in dieser Frage zuzuschreiben? 2. Ist es bei der Untersuchung

einer erweiterten Reihe von „beliebigen" chemischen Stoffen möglich, in den Gruppen, in denen solche zellschädigenden oder zellreizenden Wirkstoffe gefunden werden, auch andere einzuordnen, die wohl diesen Stoffwechseltypus besitzen, die aber keine der gewebsschädigenden Wirkungen zeigen, welche von anderen Vertretern dieser Gruppe gegeben werden? 3. Weiter scheint eine Frage, die auch in den Untersuchungen von Haas bis zu einem gewissen Grade schon gestellt worden ist, wichtig, nämlich: Können innerhalb der verschiedenen Stoffgruppen, die von einheitlichem Wirkungscharakter an Hefe gefunden wurden, weitere Differenzierungen dadurch vorgenommen werden, daß noch andere einfache Wirkungen von ihnen festgestellt werden? Ist dies der Fall, so wäre dadurch nachgewiesen, daß neben den typischen Stoffwechselwirkungen, die vielleicht auch in vivo vorliegen, noch andere Wirkungen berücksichtigt werden müßten und, bevor diese Frage definitiv entschieden ist, naturgemäß auch berücksichtigt werden müssen, um den Wirkungsmechanismus an der tierischen Zelle oder am Gewebe usw. auf diese zurückzuführen.

Es handelt sich hier also um eine Reihe von relativ einfachen Fragen, die aber immerhin einen erheblichen Aufwand erfordern, um zu Schlußfolgerungen zu kommen.

Das Untersuchungsobjekt, das wir für unsere Untersuchungen gewählt haben, war vor allem Hefe, und zwar die gleiche Art Hefe, welche in den früheren Untersuchungen von R. Meier[17] benutzt wurde, eine Bäckerhefe, die sowohl eine ausgesprochene Atmung wie eine ausgesprochene aerobe Gärung besitzt, so daß beide Stoffwechselfaktoren relativ leicht festgestellt werden können. Als zusätzliche Untersuchungen haben wir einzelne einfache Wirkungen verwendet: die hämolysierende Wirkung auf Erythrocyten, die Fällung von Serumeiweiß und die Wirkung auf Fibroblasten in vitro.

Die Auswahl der Stoffe erfolgte zum Teil auf Grund der prinzipiellen Eignung der Substanzen, zum Teil auf Grund früherer Befunde unseres Laboratoriums[21]: Die untenstehende Liste umfaßt Substanzen, welche zu den, wenn man die Gruppierung von Heubner[15] wählen will, Reizstoffen, Nervenreizgiften, zellschädigenden Giften, Capillargiften und Fermentgiften, Histaminliberatoren, Antimitotica usw. gehören. Es wurden also von uns möglichst viele verschiedene Gruppen von Substanzen verwendet, welche in ihren Wirkungen auf das Gewebe des tierischen Organismus in diesem Zusammenhang von Interesse sind[18, 22]. Außerdem wurden Desinfektionsmittel und andere antibakterielle und „zellwirksame Stoffe" herangezogen[22, 23]. Ferner wurden Hormone, Vitamine, Narkotica und andere Gruppen geprüft, von denen gewisse Stoffwechseleffekte zu erwarten waren. Die untenstehende Liste und Tab. 1 umfaßt die untersuchten Substanzen. Von einer Einteilung in

„Wirkgruppen" haben wir Abstand genommen, einmal, da eine solche Einteilung für zahlreiche Stoffe — wenn überhaupt möglich — so doch etwas willkürlich ausfallen müßte, ferner, weil wir zahlreiche neue Präparate usw. mituntersucht haben, die sich auf Grund des bisher Bekannten nicht exakt einteilen lassen, die aber doch an Hefe zum Teil eine sehr charakteristische Wirkung zeigen. Wir beschränken uns daher darauf, die untersuchten Stoffe, soweit sie Namen tragen, alphabetisch, soweit sie Nummern tragen, nach laufender Nummer anzuführen. Es sind nur solche Substanzen angeführt, von denen eine Wirkung auf den Hefestoffwechsel festgestellt werden konnte, wenn auch zum Teil nur in hohen Konzentrationen, während Substanzen, die zwar untersucht wurden, die sich aber bis zu der aus Löslichkeitsgründen möglichen Konzentration, maximal bis zu E.K. 10^{-2}, als wirkungslos erwiesen haben, nicht angegeben sind.

Von uns untersuchte Substanzen mit Namen.

Aconitin, Aluminiumacetat, Apresolin, arsenige Säure (As_2O_2), Atophan, Aureomycin, Benzimidazol, Bienengift (Forapin), Bleiacetat, Bradosol, Chinoxalin, Chinin-HCl, Chlorpikrin, Chlorcrotonaldehyd, (Mono)-Chloressigsäure, (Mono)-Chloressigsäure-äthylester, (Mono)-Chloressigsäure-methylester, Colchicin, Cortison, Cortropin, Cystein-HCl, Desoxycorticosteron, Dichloren, Dihydro-Streptomycinsulfat, Dimethylbenzimidazol, Dinitrophenol, Desogen, Histamin, (Mono)-Jodessigsäure, Kaliumcyanid, Natrium-fluorid, Natriumacetat, (8)-Oxychinolin, Propamidin Ricin, Salicylsaures Natrium, Streptomycin, Senföl, Sublimat, Terramycin, Veratrin, Vitamin B_{12}.

Nummerntragende Präparate mit Namen und Formel siehe Tab. 1.

Versuchsanordnung.

Die Verwendung reinrassiger Hefe aus dem Gärungsinstitut in Berlin hat sich aus versandtechnischen Gründen als undurchführbar erwiesen. Wir verwendeten Bäckerhefe der gleichen Herstellerfirma, die wir wöchentlich mehrmals frisch bezogen und die nach Aussehen und Gaswechselwerten im allgemeinen relativ gleichmäßig war. Nur ab und zu kam es vor, daß wir Hefe mit stärker veränderten Stoffwechseleigenschaften erhielten, von deren Verwendung wir dann Abstand nahmen.

Die frische Hefe wurde in m/15 KH_2PO_4-Lösung suspendiert, gewaschen, scharf abgenutscht und nachgewaschen. Der feuchte Hefebrei wurde gewichtsmäßig zu 1% in der gleichen Pufferlösung fein suspendiert und die Trübung der Suspension nephelometrisch auf konstanten Wert eingestellt. Sie diente als Hefestammlösung.

Die Versuche wurden in gewöhnlichen Warburg-Gefäßen durchgeführt, in deren Hauptraum 1 ml Hefestammlösung mit 1 ml einer Lösung von 6% Glucose in Pufferlösung versetzt wurde. Die zu prüfenden Substanzen sind in der Glucosepufferlösung gelöst zugegeben worden. Ges.Vol. 2,0 ml, Temp. 28°, Gas: Luft, Temp.-Ausgleich 20 min, Dauer: 1 Std (Temp.-Leerversuche und Substanzleerversuche ohne Hefe).

Tabelle 1. *Nummernpräparate* (Reihenfolge ansteigender Nummern).

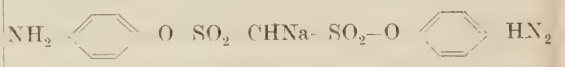
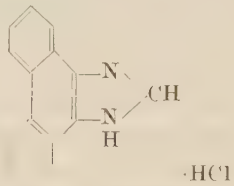
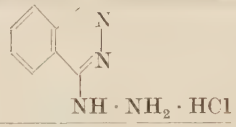
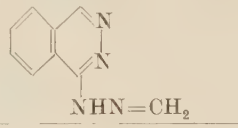
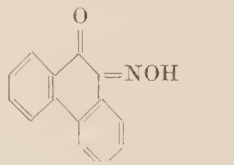
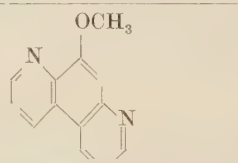
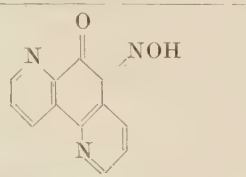
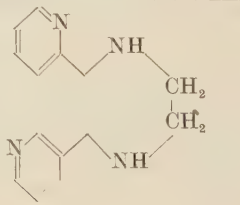
Präp.	Name	Formel
5310	Methionsäure-4,4′-diaminodiphenylester (Natriumsalz)	
5657	9,10-Phenanthrenoimidazolhydrochlorid	
5968	1-Hydrazino-phthalazinhydrochlorid	
7126	Formaldehyd-phthalazinylhydrazon	
7831	Phenanthrenchinonmonoxim	
8628/A	6-Methoxy-4,7-phenanthrolin	
10048	Monoxim des 1,7-Phenanthrolin-5,6-chinons	
10222	5,6:5′,6′; 7,8:5′,6′-Dipyridino-1,2,3,4-tetrahydrochinoxalin	

Tabelle 1 (Fortsetzung).

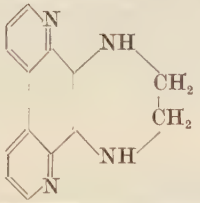
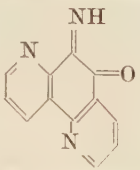
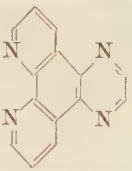
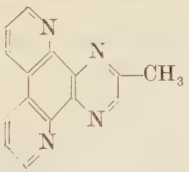
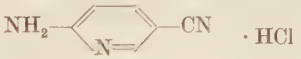
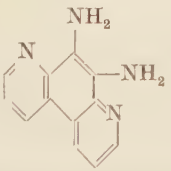
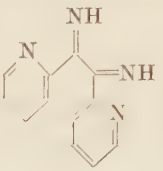
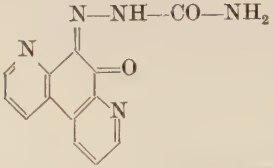
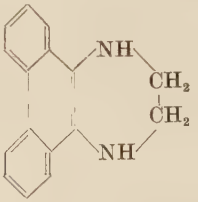
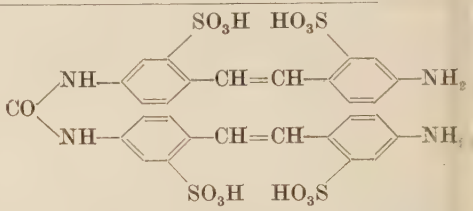
Präp.	Name	Formel
10510	5,6:5′,6′; 7,8:2′,3′-Dipyridino-1,2,3,4-tetrahydro-chinoxalin	
11045	Monoimin des 1,7-Phenanthrolin-5,6-chinons	
11485	5,6:2′,3′; 7,8:5′,6′-Dipyridino-chinoxalin	
11739	5,6,7,8-Dipyrido-(2′,3′,5″,6″)-2-methyl-chinoxalin	
11788	2-Amino-5-cyan-pyridinhydrochlorid	
11848	5,6-Diamino-4,7-phenanthrolin	
11875	Diimin des 4,7-Phenanthrolin-5,6-chinons	

Tabelle 1 (Fortsetzung).

Präp.	Name	Formel
11925	Semicarbazon des 4,7-Phenanthrolins-5,6-chinons	
11926	5,6; 7,8-Dibenzo-1,2,3,4-tetrahydro-chinoxalin	
13027	N,N′-Bis-[-4′-amino-stilben-2,2′-disulfo-säure-(4)]-harnstoff	

Je Substanz und Dosis wurden 2—6 Versuche zu verschiedenen Zeiten durchgeführt und bestimmt:

die Atmung in μl Sauerstoffverbrauch unter Absorption der freiwerdenden CO_2 mit KOH im mittleren Einsatz;

die aerobe Gärung in μl CO_2-Bildung bei fehlender CO_2-Absorption (in der üblichen Voraussetzung eines respiratorischen Quotienten = 1).

Als Gesamt-CO_2-Bildung wurde die Gärungs-CO_2 + die dem O_2-Verbrauch entsprechende Atmungs-CO_2 berechnet.

Im allgemeinen ergab unsere Hefe Atmungswerte von etwa 200 μl/Std, aerobe Gärungs-CO_2 von etwa 100 μl/Std und somit eine Gesamt-CO_2-Bildung von etwa 300 μl/Std.

Da die Atmungs- und Gärungswerte je nach Hefe nicht immer gleich waren, haben wir die Atmungs-, die aeroben Gärungs- und die Gesamt-CO_2-Werte in Prozent zu dem im gleichen Versuchsansatz mitlaufenden Kontrollversuch ohne Substanzzusatz zum Ausdruck gebracht. Je Substanz und Dosis werden die mittleren Prozentwerte aller Versuche angegeben.

Zur Kritik der Methode sei erwähnt, daß wir uns darüber klar sind, daß es sich nicht um ein völlig einwandfreies Verfahren handelt, das aber den gegebenen Anforderungen dennoch gerecht wird. Bei normaler, nicht unter dem Einfluß eines Präparates stehender Hefe gibt die Methode die Gärungs-CO_2 als CO_2-Bildung, welche trotz gleichzeitig erfolgender Sauerstoffaufnahme positive Werte liefert, wohl richtig zum Ausdruck, da der respiratorische Quotient gleich 1 ist. Unter der Wirkung eines Präparates allerdings ist ein respiratorischer Quotient = 1 nicht erwiesen, die Atmungs-CO_2 könnte vermindert und die als Gärungs-CO_2 bezeich-

nete Kohlensäure in Wirklichkeit etwas größer sein; in diesem Fall wäre der angegebene Gesamt-CO_2-Wert die reellere Wertangabe. Auch hat die Angabe der Stoffwechselwerte in Prozent der Norm gewisse Nachteile, obgleich sie wegen den zu verschiedenen Zeiten ungleichen Kontrollwerten notwendig erscheint: Die prozentuale Änderung der Gärungs-CO_2 erscheint groß, da die Kontrollwerte absolut klein sind, während die prozentuale Änderung der Gesamt-CO_2-Werte kleiner ist in Anbetracht der größeren absoluten Menge.

Versuchsergebnisse.

Zunächst seien die Ergebnisse der Versuche bei Einwirkung verschiedener Stoffe auf den Gaswechsel der Hefe besprochen. Die erhaltenen Versuchsresultate wurden je Substanz in kombinierten Dosiswirkungskurven dargestellt, aus denen die prozentuale Veränderung der Atmung, der aeroben Gärung und der berechneten Gesamt-Kohlensäure, bezogen auf die Kontrollwerte ohne Substanzzusatz = 100%, hervorgeht.

Wir haben bereits erwähnt, daß schon früher von R. Meier verschiedene Stoffwechseltypen für gewisse Substanztypen beobachtet wurden und zwar: gleichzeitige Hemmung der Atmung und aeroben Gärung, Hemmung der Atmung mit gleichzeitig mehr oder weniger starker Steigerung der Gärung und vorausgehende Hemmung der Gärung mit nachfolgender Atmungshemmung. Unsere Versuchsresultate mit einer größeren Anzahl von Substanzen zeigen einwandfrei, daß diese früher aufgestellten Wirkungstypen nicht genügen, um die heute vorliegenden Befunde einzuordnen, und daß sich zwanglos und eindeutig noch einige weitere Wirkungsarten feststellen lassen, die bisher nicht beobachtet wurden.

Für die jetzt insgesamt festgestellten Wirkungstypen geben wir im folgenden je ein Beispiel in Form der Dosiswirkungskurve eines typischen Vertreters der diesen Wirkungstyp zeigenden Stoffgruppe und fügen die übrigen Stoffe dieser Gruppe der Dosiswirkungskurve bei, unter Angabe der Endkonzentration, bei der erstmals ein nachweisbarer Effekt in Erscheinung tritt.

Die aus den Kurven ersichtlichen Wirkungscharaktere resultieren aus den Differenzen im Verhältnis der Wirkung auf die Atmung zu der auf die aerobe Gärung (eventuell auch auf die Gesamt-CO_2-Bildung) hinsichtlich Richtung und Wirkungseintritt. Alle Substanzen, welche das gleiche Wirkungsverhältnis Atmung : Gärung (: Ges. CO_2) zeigten, wurden zur gleichen Gruppe mit gleichem Wirkungscharakter gerechnet, auch wenn die Lage des Wirkungsbeginns im Dosenbereich und eventuell im Ausmaß der Wirksamkeit verschieden ist.

Auf Grund der stimulierenden (+) oder der hemmenden (—) Wirkung oder der Unwirksamkeit (o) auf die Atmung einerseits, die aerobe Gärung

der Hefe andrerseits, lassen sich folgende Gruppen unterteilen und die von uns untersuchten Substanzen einordnen:

		Wirkung auf *Atmung*		*aerobe Gärg.*
O. Gruppe:	12 Substanzen, die weder die Atmung noch die Gärung beeinflussen und im einzelnen nicht angeführt werden	o		o
I. Gruppe:	15 Substanzen, welche die Atmung nicht beeinflussen, die Gärung steigern	o		+
II. Gruppe:	8 Substanzen, welche die Atmung nicht beeinflussen, die Gärung hemmen	o		—
	Substanzen, welche die Atmung steigern, die Gärung aber nicht beeinflussen, wurden nicht gefunden	(+		o)
III. Gruppe:	1 Substanz, welche die Atmung und die Gärung steigert (jedenfalls in einem bestimmten Konzentrationsbereich)	+		+
	Substanzen, welche die Atmung steigern, die Gärung hemmen	(+		—)
	und Substanzen, welche die Atmung hemmen, die Gärung nicht beeinflussen, wurden nicht gefunden	(—		o)
IVa. Gruppe:	5 Substanzen, welche die Atmung wenig hemmen, die Gärung stärker	—	<	—
IVb. Gruppe:	14 Substanzen, welche die Atmung gleich stark hemmen wie die Gärung	—	=	—
Va. Gruppe:	16 Substanzen, welche die Atmung hemmen, die Gärung steigern, bei unveränderter Gesamt-CO_2	—		+ (Ges.CO_2 o)
Vb. Gruppe:	10 Substanzen, welche die Atmung hemmen, die Gärung und auch die Gesamt-CO_2-bildung steigern	—		+ (Ges.CO_2 +)

Die für die einzelnen Stoffgruppen charakteristischen Dosiswirkungskurven laut den Abb. 1—7 dürften kaum zweifeln lassen, daß diese Wirkungstypen eindeutig voneinander differenziert werden können.

Betrachtet man die zu einer Gruppe mit gleicher Stoffwechselwirkung gehörenden Stoffe, so ergeben sich einige auffallende Feststellungen. Einzelne Gruppen enthalten nur einzelne oder nur wenige Stoffe, sie machen deshalb einen „einheitlicheren" Eindruck. Es ist in der Tat möglich, daß der in diesen Gruppen vorliegende Stoffwechselwirkungstypus einen Effekt mit höherer Spezifität darstellt, es ist aber ebenso möglich, daß die Auswahl der untersuchten Stoffe zufällig nur einzelne Vertreter dieser entsprechenden Typen ergeben hat. In diese Klasse von Gruppen gehört z. B. Gruppe III Dinitrophenol, II mit vor allem Chinoxalinderivaten, IVa mit Jodacetat und Hg-Derivaten. Besonders die

Zusammengehörigkeit der letzten Stoffe ist wohl auf Grund ihrer Reaktionsfähigkeit mit SH-Gruppen als verständlich anzusehen. In anderen Gruppen, besonders denen, die eine größere Zahl von Substanzen enthalten, finden sich stets Gruppen von ähnlichen Stoffen, aber vergesellschaftet mit anderen Stoffen oder Gruppen von Stoffen, die auf Grund chemischer Konstitution und ihrer pharmakologischen Wirkung als durchaus andersartig bezeichnet werden müssen.

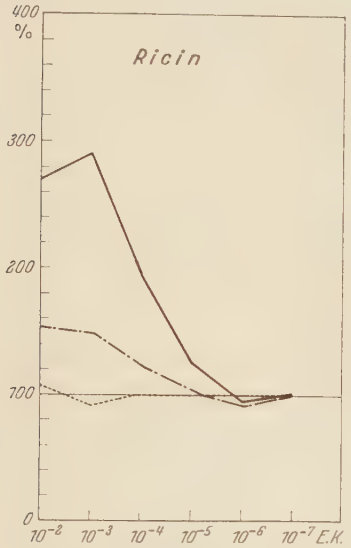


Abb. 1.

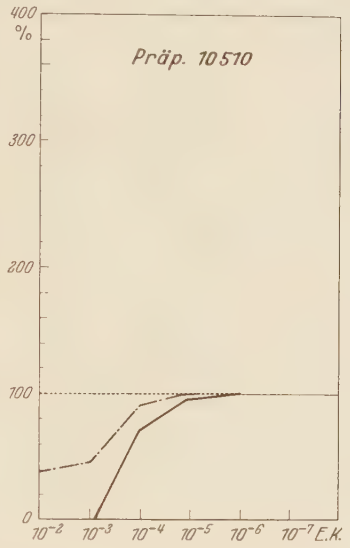


Abb. 2.

Abb. 1. *Stoffwechselwirkungsgruppe I.* Der in obiger Kurve dargestellte Wirkungstyp wird durch die folgenden Substanzen gegeben; geordnet nach minimal wirksamer Konzentration. *Wirksamkeitsgrenze* E.K. 10^{-2} Streptomycin (Dihydro-), Präp. 11045; 10^{-3} Präp. 12669/A, Bleiacetat, Al.acetat, Colchicin Na-acetat, Präp. 12633, Cortison, Histamin; 10^{-4} Präp. 11875, 13027, Oestradiol Vit. B_{12}; 10^{-5} Ricin.

Abb. 2. *Stoffwechselwirkungsgruppe II.* Der in obiger Kurve dargestellte Wirkungstyp wird durch die folgenden Substanzen gegeben; geordnet nach minimal wirksamer Konzentration. *Wirksamkeitsgrenze* E.K. 10^{-2} Präp. 11739, 9219/5; 10^{-3} Präp. 11925; 10^{-4} Präp. 10510, 10510/A, 7831; 10^{-5} Präp. 10222, 11926.

——— Gesamt CO_2 —·—·— CO_2 Gärung ····· O_2 Atmung

Besonders deutlich ist die Verteilung auf verschiedene Gruppen bei den sogenannten Reizstoffen, d. h. bei einer Stoffgruppe, die unter einem sehr allgemeinen Begriff zusammengefaßt wird. Bereits in den älteren Untersuchungen von R. Meier war eine solche Differenzierung der Stoffwechselwirkung gewebsschädigender Stoffe beschrieben worden, wobei sich allerdings bestimmte Typen wie gewisse „Nervenreizstoffe" in einer Gruppe häuften. Dies trifft heute noch zu, doch finden sich Nervenreizstoffe und cytotoxische Stoffe außerdem noch unter anderen Typen von Stoffwechselwirkungen. Veratrin und Aconitin z. B. finden

sich in der Gruppe Vb, daneben Antibiotica wie Terramycin und Aureomycin sowie die Aminosäure Cystein. Ricin findet sich in der Gruppe I zusammen mit Pb. acetat, Al. acetat, Histamin, Colchicin und z. B. Cortison und Vitamin B_{12}. Andere „Reizstoffe" wie Chlorcrotonaldehyd, Chlorpikrin, Senföl und As_2O_3 sowie „Schmerzstoffe" wie z. B. die Ester der Monochloressigsäure finden sich in Gruppe Va zusammen mit den auch gewebsschädigenden Desinfektionsmitteln der Invertseifenreihe

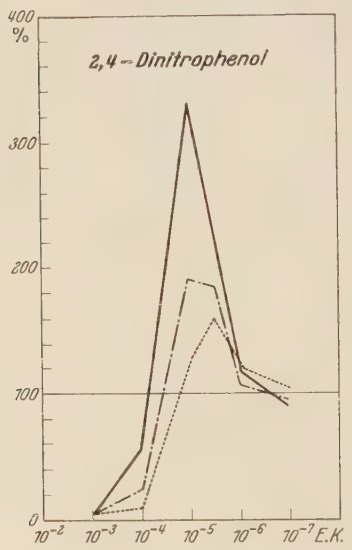


Abb. 3.

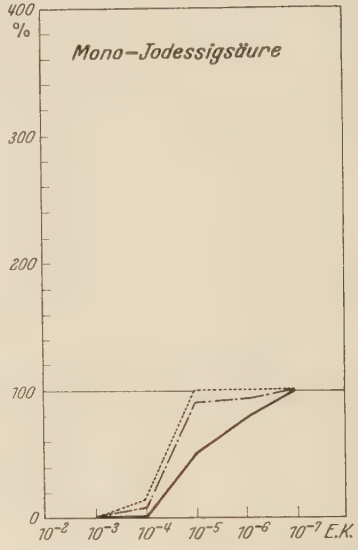


Abb. 4.

Abb. 3. *Stoffwechselwirkungsgruppe III.* Der in obiger Kurve dargestellte Wirkungstyp wird durch die folgende Substanz gegeben. *Wirksamkeitsgrenze* log. E.K. 10^{-5} 2,4-Dinitrophenol.

Abb. 4. *Stoffwechselwirkungsgruppe IVa.* Der in obiger Kurve dargestellte Wirkungstyp wird durch die folgenden Substanzen gegeben; geordnet nach minimal wirksamer Konzentration. *Wirksamkeitsgrenze* E.K. 10^{-4} Monochloressigsäure; 10^{-5} $HgCl_2$, HgCl 10^{-6} Monojodessigsäure, Präparat 10048.

und Urethan. In Gruppe IVb finden sich Bienengift, N-Senfgas, Nafluorid, Chinin, zusammen mit Propamidin, 8-Oxychinolin und salicylsaurem Natrium. Die cytotoxischen „Fermentgifte" wie Monojodessigsäure, Natriumfluorid oder Kaliumcyanid finden sich wohl entsprechend der Verschiedenheit ihres Angriffspunktes in den Gruppen IVa, bzw. IVb, bzw. Vb. Analog finden sich auch andere Stofftypen auf verschiedene Stoffwechselgruppen verteilt, so finden sich „Desinfizienzien" wie Sublimat in IVa, Trypaflavin in IVb und Desogen in Va, die Chemotherapeutica Streptomycin in I, Salicylat in IVb, Terramycin, Aureomycin in Vb. Eine solche Verteilung ist bei dem doch stark verschiedenen Wirkungscharakter dieser letzten Stoffe nicht besonders überraschend.

Unter den Reizstoffen, bzw. den gewebsschädigenden Stoffen, finden sich somit schmerzerregende Stoffe einerseits und recht ähnliche gewebs-

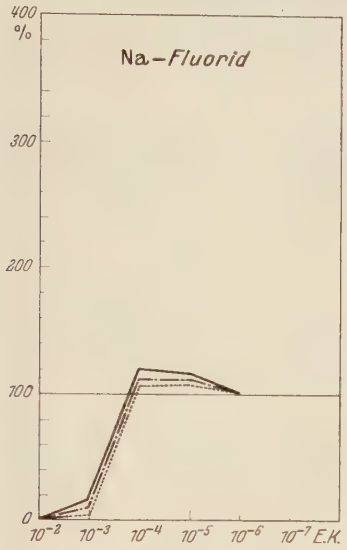


Abb. 5.

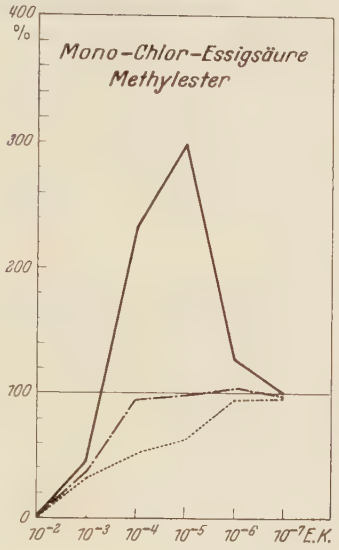
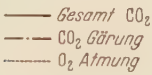


Abb. 6.

Abb. 5. *Stoffwechselwirkungsgruppe IVb.* Der in obiger Kurve dargestellte Wirkungstyp wird durch die folgenden Substanzen gegeben; geordnet nach minimal wirksamer Konzentration. *Wirksamkeitsgrenze* E.K. 10^{-2} Chinin-HCl; 10^{-3} Na-fluorid, Salicylsäure-Na, Präp. 11848, Chinoxalin, 8-Oxychinolin, Präp. 8628/A, 7126; 10^{-4} Präp. 5657, Propamidin, Bienengift, Dichloren, Trypaflavin; 10^{-5} Präp. 11485.

Abb. 6. *Stoffwechselwirkungsgruppe Va.* Der in obiger Kurve dargestellte Wirkungstyp wird durch die folgenden Substanzen gegeben; geordnet nach minimal wirksamer Konzentration. *Wirksamkeitsgrenze* E.K. 10^{-2} Urethan; 10^{-3} Atophan, As_2O_3, Benzimidazol, Chloralhydrat; 10^{-4} Chlorcrotonaldehyd, Apresolin; 10^{-5} Desogen, Desoxycorticosteron; 10^{-6} Monochlor- und -jodessigsäuremethylester, Senföl, Bradosol, Chlorpikrin; 10^{-7} Monochlor- und -jodessigsäure-äthylester.



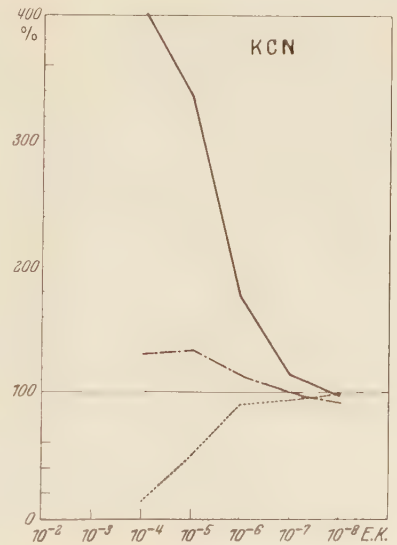


Abb. 7. *Stoffwechselwirkungsgruppe Vb.* Der in obiger Kurve dargestellte Wirkungstyp wird durch die folgenden Substanzen gegeben; geordnet nach minimal wirksamer Konzentration. *Wirksamkeitsgrenze* E.K. 10^{-2} Präp. 13050, Veratrin, Aconitin; 10^{-3} Terramycin, Dimethylbenzimidazol, Präp. 11788; 10^{-4} Aureomycin, Präp. 5310; 10^{-5} Cystein HCl; 10^{-7} KCN.

schädigende Stoffe andrerseits in verschiedenen Gruppen, z. B. Aconitin, Veratrin, auch Histamin für die erstgenannte, Ricin, Bienengift, Senfgas usw. für die letztgenannte Eigenschaft. Es muß deshalb wohl angenommen werden, daß eine eindeutige und endgültige Zuordnung zu einem bestimmten Wirkungstypus auf Grund der Stoffwechselwirkung an Hefe nicht ohne weiteres erfolgen kann.

Es erhebt sich nun die weitere Frage, wieweit die in einer Gruppe zusammenfaßbaren Stoffe überhaupt hinsichtlich ihres pharmakologischen Wirkungstypus als verwandt oder gleichartig aufgefaßt werden können.

Das Material, das wir hier zusammengetragen haben, ist zwar nicht ausreichend, um in allen Gruppen eine Entscheidung dieser Frage herbeizuführen, doch ist es ausreichend für gewisse Feststellungen. Die Ermittlung eines bestimmten Stoffwechselwirkungstypus zeigt eine gewisse Spezifität, die sich daraus ergibt, daß sich chemisch (und auch pharmakologisch) nahe verwandte Stoffe gruppenweise unter dem gleichen Wirkungstypus finden. So z. B. Monojodessigsäure, Monochloressigsäure (IVa), Methyl-Äthylester der Monojod-Monochloressigsäure (Va), Cochicin, Demecolcin (12669A) (I), $HgCl_2$, HgCl (IVa), Veratrin, Aconitin (Vb). Bradosol, Desogen (Va) usw. Diese Aufzählung zeigt doch wohl, daß das Vorhandensein eines bestimmten Stoffwechselwirkungstypus in irgendeiner Weise einen Spezifitätscharakter besitzt. Man könnte auf Grund der vorliegenden Daten unschwer noch andere Gruppen mit pharmakologisch verwandten Wirkstoffen unter dem gleichen Gesichtspunkt zusammenfassen.

Daß aber die sich in dieser Feststellung dokumentierende Spezifität nur eine begrenzte ist, ergibt sich daraus, daß sich in einer Gruppe mit gleicher Stoffwechselwirkung Stoffe und Stoffgruppen finden, die auf Grund ihrer pharmakologischen Wirkung kaum in Zusammenhang gebracht werden können. So finden sich als besonders prägnante Beispiele zusammen in Gruppe I Ricin, Colchicin und Derivate zusammen mit Oestradiol, Cortison und Streptomycin, in Gruppe IVb Na-fluorid, Dichloren, Bienengift zusammen mit Oxychinolin und Natriumsalicylat, in Gruppe Va die Ester der Monojod- und Monochloressigsäure, Chlorkrotonaldehyd, Chlorpikrin, Senföl zusammen mit Desoxycorticosteron und Atophan. Daß derartige Beispiele nicht in allen Stoffgruppen vorliegen, kann naturgemäß bedeuten, daß bestimmte Stoffwechseltypen ihrer Art nach unspezifischer sind, kann aber auch davon abhängig sein, daß zufällig nicht genügend entsprechende Stoffe ausgewählt wurden. Die Zusammenfassung bestimmter Stoffe in bestimmten Gruppen zeigt aber doch wohl, daß in der Skala der Wirkungen dieser Stoffe Teilphänomene von ähnlichem Charakter vorhanden sein können.

Diskussion der Versuchsergebnisse.

Es fällt bei der vorliegenden Sachlage schwer, eine einfache Theorie für die beobachteten Wirkungstypen an Hefe zu geben. Die quantitativen Verhältnisse, besonders im Vergleich zu anderen Wirkungen, dürfen hier wohl zunächst außer acht gelassen werden, da bei der Hefe besondere Permeabilitätsverhältnisse maßgebend sein können.

Die verschiedenen Wirkungscharaktere können wohl nur als durch verschiedene Beeinflussung bestimmter Angriffspunkte zustandegekommen aufgefaßt werden. Ist diese Auffassung richtig, so könnte z. B. die Wirkung auf verschiedene „Fermente" oder ihre Faktoren die Ursache der Wirkungen sein und es wäre aufzuklären, welche Einzelfaktoren in Betracht kommen. Dieser relativ einfache Erklärungsversuch ist aber deswegen nicht ohne weiteres für alle Stoffe befriedigend, weil er in dieser Form wohl nur akzeptabel wäre, wenn in den Wirkstoffgruppen pharmakologisch einigermaßen konforme Typen vorliegen würden. Dies ist aber nicht der Fall. So müßte wohl für einen Teil der Wirkstoffe angenommen werden, daß der beobachtete Effekt nicht ohne weiteres das Resultat der Beeinflussung eines Angriffspunktes in einem System ist, das direkt für die beobachtete Stoffwechseländerung verantwortlich ist, sondern daß der gemessene Endeffekt das Resultat verschiedener Effekte sein dürfte, die dem Charakter nach als primäre oder sekundäre, das Stoffwechselsystem beeinflussende, zu bezeichnen wären. Mit einer solchen Auffassung wäre auch ohne weiteres vereinbar, daß pharmakologisch sehr verschiedene Stoffgruppen in den Stoffwechselwirkungsgruppen zusammen vorkommen. Damit wird naturgemäß auch der Bezug des an der Hefe beobachteten Effektes auf andere pharmakologische Wirkungen sehr erschwert, da die Möglichkeit besteht, daß die Wirkung nicht ohne weiteres in allen Fällen einen gleichartigen Endeffekt nach sich ziehen muß, obgleich dem pharmakologischen Effekt und dem an der Hefe ein gemeinsamer „Nenner" zugrunde liegt. Damit wird der beobachtete Effekt am Stoffwechsel der Hefe zwar ein Indiz für einen Wirkungstypus, kann aber nicht ohne weiteres Grundlage dafür sein, andere mit der gleichen Substanz beobachteten Effekte auf ihn zu beziehen.

Wie bereits gesagt, möchten wir nicht darauf eingehen, den Zusammenhang aller pharmakologischen Wirkungen jedes hier beschriebenen Wirkungstyps zu besprechen, möchten aber doch an Hand einiger Beispiele der Wirkungsunterschiede einzelner ausgewählter Substanzgruppen an einfachen „Testreaktionen" zeigen, in welch verschiedener Weise andere Eigenschaften der geprüften Stoffe mit dem einen oder dem anderen Wirkungstypus vergesellschaftet sein können.

Wir haben einige Substanzen, wie schon eingangs erwähnt, auf ihre Fähigkeit zur Eiweißfällung aus Blutserum und zur Hämolyse von Kaninchenblutkörperchen geprüft.

Zur Prüfung auf eiweißfällende Wirkung wurden 2,5 cm³ Pferdeserum immer gleicher Art (aus dem Seruminstitut Bern) mit 2,5 cm³ isotonischer NaCl-Lösung versetzt, die die zu prüfende Substanz in verschiedenen Konzentrationen enthielt. Nach 4 Std Stehen bei Zimmertemperatur wurde abzentrifugiert, der Niederschlag 2mal mit Wasser gewaschen, mit Aceton/Äther getrocknet und gewogen.

Die Hämolyseversuche wurden mit je 2 cm³ einer 2%igen Suspension von Kaninchenblutkörperchen, versetzt mit 2 cm³ isotonischer NaCl-Lösung enthaltend die zu prüfende Substanz in verschiedenen Konzentrationen, durchgeführt. Nach 4 Std Stehen bei Zimmertemperatur wurde der Hämolysegrad mit dem unter Verwendung destillierten Wassers verglichen und die Substanzkonzentration angegeben, die einen Hämolysegrad von 25, 50 oder 100% verursacht.

Die meisten der geprüften Substanzen verursachen selbst in relativ hohen Endkonzentrationen weder Eiweißfällung noch Hämolyse, und viele Stoffe konnten aus Löslichkeitsgründen nicht auf ihre eiweißfällende Wirkung hin geprüft werden.

Dennoch ergibt sich beim Vergleich einiger Substanzen in Gruppe IVb, um nur ein Beispiel zu nennen, hinsichtlich hefestoffwechsel- und eiweißfällender Wirkung, wie aus Tab. 2 ersichtlich, daß auf Hefe gleich stark

Tabelle 2.

		minim. wirks. Hefedosis	Eiweißfällung aus Pferdeserum
Gruppe IVb	Bienengift (Forapin)	10^{-4}	$2{,}5 \cdot 10^{-1}$: 0
	Propamidin	10^{-4}	$5 \cdot 10^{-2}$: 3,7 mg
	Dichloren	10^{-4}	$5 \cdot 10^{-2}$: 0
	Trypaflavin	10^{-4}	$5 \cdot 10^{-3}$: 123 mg

wirksame Substanzen deutliche oder keine eiweißfällende Wirkung zeigen. Und aus dem Vergleich von Substanzen der Gruppe Va und Vb ergibt sich als weiteres Beispiel hinsichtlich Stoffwechselwirkung auf Hefe und hämolysierende Wirkung laut Tab. 3, daß auf Hefe stark wirksame Schmerzstoffe keine Hämolyse verursachen, wohl aber das

Tabelle 3.

		minim. wirks. Hefedosis	Hämolysegrad
Gruppe Va	Monohalogenessigsäureester . .	10^{-7} bis 10^{-6}	0
	Chlorkrotonaldehyd	10^{-4}	0
	Atophan	10^{-3}	10^{-3} = 100%
Gruppe Vb	KCN	10^{-6}	$5 \cdot 10^{-2}$ = 25%
	Veratrin	10^{-2}	$3 \cdot 10^{-3}$ = 50%
	Aconitin	10^{-2}	10^{-2} = 0

auf Hefe wesentlich weniger stark wirksame Atophan, und daß auf Hefe schwach wirkende Substanzen teils Hämolyse verursachen, teils nicht.

Endlich sei noch ein Vergleich zwischen Hefestoffwechselwirkung und Wirksamkeit auf Fibroblasten in der Gewebekultur* von Substanzen

* Die Wirksamkeit auf Fibroblasten in der Gewebekultur wurde von Frau Dr. Schär in unseren Laboratorien geprüft.

aus verschiedenen Gruppen gezeigt (Tab. 4), aus dem hervorgeht, daß einem bestimmten Stoffwechseltypus der Wirkung an der Hefe nicht ein gleichartiger Wirkungstypus an den Fibroblasten entspricht. Dabei möchten wir von den quantitativen Relationen der Wirkungen absehen,

Tabelle 4.

		minim. wirks. Hefedosis	Fibroblasten Wirkung bei EK
Gruppe I	Colchicin	10^{-3}	10^{-8}
	Histamin	10^{-3}	0 (10^{-4})
Gruppe II	Präp. 10510	10^{-4}	10^{-6} Mitoseverm.
	Präp. 10222	10^{-5}	10^{-4} (tox.)
Gruppe IVb	Präp. 11485	10^{-5}	10^{-4} Mitosestörg.
	Präp. 5657	10^{-4}	0 (10^{-4})
	Salicylsaures Natrium	10^{-3}	10^{-3} (tox.)
	Präp. 11848	10^{-3}	0 (10^{-4})
Gruppe Va	Senföl, Bradosol, Chlorpikrin	10^{-6}	10^{-6} Mitosestörg.
	Urethan	10^{-2}	0 (10^{-4})
Gruppe Vb	KCN	10^{-6}	10^{-5} (tox.)
	Cystein	10^{-5}	0 (10^{-4})

meinen aber dennoch annehmen zu sollen, daß qualitativ differente Wirkungen an einem Objekt nicht ohne weiteres mit einer qualitativ gleichartigen Wirkung an einem anderen Objekt in Beziehung gebracht werden können.

Wenn man zu den erwähnten Wirkungen noch alle anderen pharmakologischen Wirkungen, besonders die spezifischen Charakters, hinzunimmt, so wird wohl der Schluß einleuchten, daß der festgestellte Wirkungstypus am Stoffwechsel der Hefe einer weiteren Analyse hinsichtlich seines detaillierten Mechanismus bedarf, um in direkte Beziehung zu anderen Wirkungen gesetzt werden zu können. Aber gerade auf Grund dieser Schlußfolgerung sind die vorliegenden Untersuchungen in theoretischer Hinsicht wertvoll, als sie zeigen, daß die Feststellung eines Effektes in einem komplexen System nicht eine direkte Analogie desselben zu anderen Wirkungen beweist. Es ist dies vielleicht eine banal erscheinende Feststellung, aber trotzdem ist sie von grundsätzlicher Bedeutung, da sie zeigt, in welchem Umfange es erlaubt sein mag, auf Grund von Analogien aus parallelen Beobachtungen von Wirkungen Schlußfolgerungen hinsichtlich der Gleichartigkeit der Kausalzusammenhänge zu ziehen. Trotzdem diese Untersuchung somit den Wirkungsmechanismus von Reizstoffen nicht einer weitergehenden Definierung zugeführt hat, dient sie doch der Entwicklung der Analyse von Zellwirkungen und vielleicht pharmakologischen Wirkungen überhaupt, sofern man den allgemeinen Schlußfolgerungen zustimmen will, nämlich, daß auch bei sogar formal gleichartigen Wirkungen eine detaillierte

Analyse des Angriffspunktes zu erfolgen hat, ehe sie als vollständig gleichartig oder als funktionsanalog zu anderen Wirkungen angesehen werden können. Es besteht möglicherweise wohl zwischen den Wirkungseffekten eine definierte „Gleichartigkeit", doch kann diese durch die Modifikation, die die Verhältnisse der verschiedenen Objekte ergeben, nur mit größter Vorsicht von einem auf ein anderes Objekt übertragen werden, besonders wenn nicht gleichartige Maßelemente und Effekte als Objekt der Wirkung ermittelt und verglichen werden sollen. Die Aufklärung eines solchen Wirkkomplexes könnte geeignet sein, Zusammenhänge der Mechanismen aufzuklären, die an verschiedenen Zellen, in verschiedener Weise zusammenhängend, die Ursache eines spezifischen Effektes sind. Eine solche Art der Analyse dürfte auch für die Vorstellung von Wirkungszusammenhängen allgemeine Bedeutung besitzen.

Zusammenfassung.

Zur Beurteilung der Bedeutung eines bestimmten Stoffwechseleffektes an Hefe für die Analyse der pharmakologischen Gesamtwirkung werden eine größere Reihe von Reizstoffen auf ihre Stoffwechselwirkung an Hefe untersucht und ihr Effekt mit demjenigen pharmakologisch andersartigen Stofftypen verglichen. Die geprüften Stoffe umfassen Reizstoffe, Nervenreizstoffe, Capillargifte, cytotoxische Substanzen, Histaminliberatoren, Desinfizienzien, Chemotherapeutica, Hormone, Vitamine und andere Typen.

Auf Grund ihres Stoffwechselwirkungstyps auf Atmung, aerobe Gärung, Gesamt-CO_2-Produktion lassen sich, je nachdem die eine oder die andere oder alle diese Stoffwechselfunktionen betroffen sind, 7 eindeutige Wirkungstypen, d. h. fast alle der theoretisch möglichen Varianten der vorliegenden Variabeln, unterscheiden, in die sich alle untersuchten Stoffe einordnen lassen. Es lassen sich somit zu den bisher vor allem aufgefundenen Stoffwechselwirkungstypen wie dem Blausäuretypus (Hemmung der Atmung bei gesteigerter Kohlensäureproduktion) und dem Natriumfluoridtypus (Hemmung der Gärung bei kleinerer Konzentration als Hemmung der Atmung) noch eine Reihe biochemisch wohldifinierter Stoffwechseltypen auffinden.

Die untersuchten Stoffe finden sich in diesen Wirkungsgruppen so verteilt, daß sich chemisch verwandte Stoffe im allgemeinen gruppenweise in bestimmte Stoffwechseltypen einordnen, vor allem, wenn sie pharmakologisch ähnlich wirken.

In ihrer pharmakologischen Wirkung — unabhängig von ihrer chemischen Struktur — „ähnliche" Stoffe finden sich zum Teil in der gleichen Gruppe, öfter aber in verschiedenen Gruppen. In der gleichen Stoffwechselwirkungsgruppe können sich somit, und zwar in der Mehrzahl der Fälle, Stoffe und Gruppen von Stoffen von verschiedenem

pharmakologischen Wirkungstypus finden. Trotzdem liegt offenbar eine gewisse „gesetzmäßige" Zuordnung von einzelnen oder mehreren Stoffen oder Stoffgruppen zu einem bestimmten Stoffwechseltypus vor. Die Einzelheiten dieser Zuordnung sind aus den angegebenen Tabellen ersichtlich.

Da sich nur eine partielle Gesetzmäßigkeit der Zuordnung zum Stoffwechselwirkungstypus ergibt, wird geschlossen, daß der beobachtete Stoffwechseltypus eines Stoffes ein charakteristisches Zeichen der Wirkungsart darstellt, daß sich aber nur bei detaillierter Aufklärung des Wirkungsmechanismus die Analogie desselben zu bestimmten anderen Wirkungseigenschaften der untersuchten Stoffe ergibt.

Literatur.

[1] Bacq, Z. M.: Enzymologia (Den Haag) **10**, 48 (1941). — [2] Bacq, Z. M.: Experientia (Basel) **2**, 349, 385 (1946). — [3] Barron, G., G. R. Bartlett and Z. B. Miller: J. of Exper. Med. **87**, 489 (1948). — [4] Borsook, H., and J. W. Dubnoff: J. of Biol. Chem. **141**, 717 (1941). — [5] Fleckenstein, A.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **203**, 151 (1944). — [6] Fleckenstein, A.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **205**, 21 (1948). — [7] Fleckenstein, A.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **208**, 189 (1949). — [8] Fleckenstein, A., H. Tippelt u. H. Kroner: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **210**, 380 (1950). — [9] Haas, H. T. A., A. Kraushaar u. C. A. Cordula: Arch. exper. Path. u. Pharmakol **209**, 138 (1950). — [10] Haas, H. T. A.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **197**, 161 (1941). — [11] Haas, H. T. A.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **205**, 170 (1948). — [12] Haas, H. T. A.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **199**, 637 (1942). — [13] Haddow, A., G. A. R. Kon and W. C. Ross: Nature (Lond.) **162**, 824 (1948). — [14] Heubner, W.: Klin. Wschr. **1923**, 2037. — [15] Heubner, W.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **107**, 129, 151 (1925). — [16] Leuthardt, F., u. M. Staehelin: Helvet. physiol. Acta **11**, 30 (1953). — [17] Meier, R.: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **122**, 129 (1927). — [18] Meier, R.: Z. exper. Med. **87**, 283 (1933). — [19] Meier, R., u. B. Schär: Helvet. physiol. Acta **9**, C 49—50 (1951). — [20] Meier, R., P. Desaulles u. B. Schär: Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (1954, im Druck). — [21] Mettler, R.: Dissertation, Basel 1946. — [22] Schuler, W.: Experientia (Basel) **3**, 110 (1947). — [23] Schuler, W.: Helvet. physiol. Acta **11**, C 28 (1953).

Prof. Dr. Rolf Meier, Wissenschaftl. Lab. d. Ciba AG, Basel/Schweiz.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 224, S. 224—231 (1955).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Padova
(Direktor Prof. E. Meneghetti).

Die Wirkung des Acetylcholins auf die glatte Darmmuskulatur in ihrer Beziehung zu den Stoffwechselcyclen.

Von
Adolfo Porro.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 8. Oktober 1954.)

Die Möglichkeit, mit besonderen Substanzen auf einige enzymatische Prozesse oder auf Stoffwechselcyclen Einfluß zu nehmen, hat dem Studium des Wirkungsmechanismus der Heilmittel neue Wege eröffnet. Besonders bemerkenswert sind in dieser Hinsicht die Arbeiten von Ellys über Adrenalin, Calcium und Strophantin[9, 10, 11], ferner Arbeiten von Wollenberger und Larsh[27] mit Digitalis-Glucosiden am isolierten Herzen und diejenigen von Issekutz u. Mitarb. über die Vasodilatation durch Acetylcholin[15].

Einige für diese Studien in Betracht gezogene Substanzen sind: Fluoracetat, da es den Krebsschen Cyclus blockiert; Jodacetat, da es den Embden-Meyerhofschen glykolytischen Cyclus zu unterdrücken vermag; 2,4 Dinitrophenol, da es die Produktion von energiereichen Phosphaten erniedrigt; die Anerobiose und verschiedene Cyanaverbindungen wegen ihrer Fähigkeit, die oxydativen Prozesse zu unterdrücken.

Ich versuchte die Wichtigkeit der verschiedenen Stoffwechselprozesse hinsichtlich der durch das Acetylcholin hervorgerufenen Kontraktion des Kaninchendünndarms festzustellen.

Methodik.

Kaninchendünndarmsegmente von ungefähr 2—3 cm Länge wurden in einem Bad von 50 cm^3 Fassungsvermögen in Tyrodeflüssigkeit (NaCl 0,8; KCl 0,02; $CaCl_2$ 0,02; $MgCl_2$ 0,01; NaH_2PO_4 0,05; $NaHCO_3$ 0,1; Glykose 0,1%) von 38° C bei Gegenwart von Sauerstoff suspendiert. Gleichzeitig wurden die Kontraktionen von 4 Darmstücken registriert. Jedes Stück zeigte sofort kräftige und regelmäßige Pendelkontraktionen. In den 20—30 min, die dem Experiment vorangingen, wurde die Tyrodeflüssigkeit mehrmals gewechselt.

Zur Anwendung kamen Acetylcholin-Chlorhydrat Roche; Natriumfluoracetat Monsanto Che. Co.; Natriumjodacetat des British Drug House; 2,4-Dinitrophenol Merck und NaCN Merck.

Ergebnisse.

Anoxie und NaCN. Auch die längere Verabreichung von Stickstoff an Stelle des Sauerstoffs modifiziert die spontanen Kontraktionen und den Tonus des isolierten Darmes nicht, sei es mit oder ohne Glykose. Unter solchen anaeroben Bedingungen und in Gegenwart von Glykose $1 \cdot 10^{-3}$ verursacht Acetylcholin $1 \cdot 10^{-6}$ eine Kontraktion, die sich von derjenigen unter aeroben Verhältnissen nicht unterscheidet. Auch in

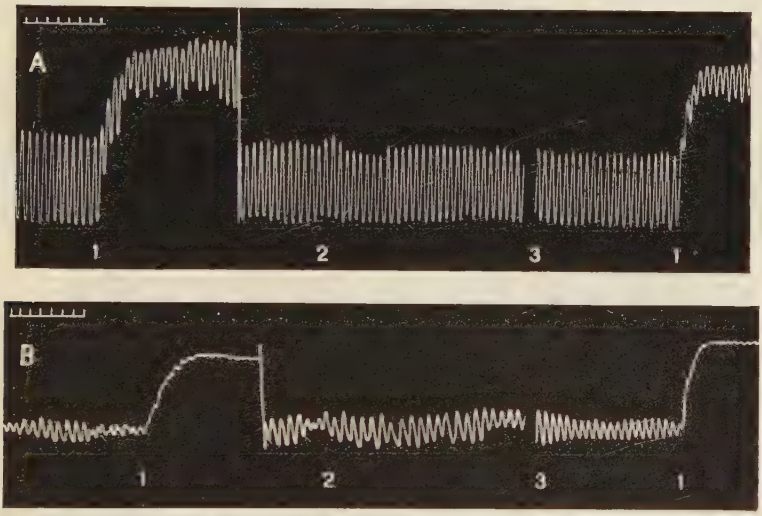


Abb. 1. Wirkung der Anoxie auf die durch Acetylcholin bewirkte Kontraktion des isolierten Kaninchendünndarms. A in Gegenwart von glykosehaltiger Tyrodelösung; B in Gegenwart von glykosefreier Tyrodelösung. 1. Acetylcholin HCl $1 \cdot 10^{-6}$; 2. Stickstoff an Stelle von Sauerstoff; 3. Nach 15 min, Zeit = 6 sec.

Abwesenheit von Glykose ist die durch Acetylcholin verursachte Kontraktion ausgeprägt und andauernd (Abb. 1).

NaCN $6 \cdot 10^{-6}$ ruft, in Gegenwart von glykosehaltiger und sauerstoffgesättigter Tyrodelösung einen progressiven, aber nicht erheblichen Abfall der Amplitude der Kontraktionen und des Tonus hervor, während in geringeren Konzentrationen ($3 \cdot 10^{-6}$, $1 \cdot 10^{-6}$) nur der Tonus herabgesetzt wird. Sowohl in den höchsten, als auch in den niedrigsten NaCN-Konzentrationen wird Acetylcholin $1 \cdot 10^{-6}$ mit einer niedrigeren Kontraktion beantwortet als bei der Kontrolle. Ohne Glykose verursacht die Vergiftung mit NaCN $6 \cdot 10^{-6}$ eine rasche Verminderung der spontanen Kontraktionen und die Acetylcholinwirkung ist kaum angedeutet (Abb. 2). Sowohl in Abwesenheit wie in Gegenwart von Glykose stellt Spülung die spontane Beweglichkeit und die Empfindlichkeit gegen Acetylcholin wieder her.

Natriumfluoracetat. Das Natriumfluoracetat bewirkt eine Hemmung des Stoffumsatzes im Krebsschen Cyclus, indem es die weitere Oxydation des Citrats verhindert (Buffa u. Peters[3]). Am Kaninchendünndarm verursacht das Natriumfluoracetat $2 \cdot 10^{-5}$ in Gegenwart von Glykose nur geringfügige Änderungen der Amplitude der spontanen Kontraktionen, die auch noch nach 15 min in gleicher Weise fortdauern. Acetylcholin $1 \cdot 10^{-6}$ ruft eine Kontraktion hervor. Ähnliche Resultate haben Farah u. Mitarb. erhalten[12] (Abb. 3).

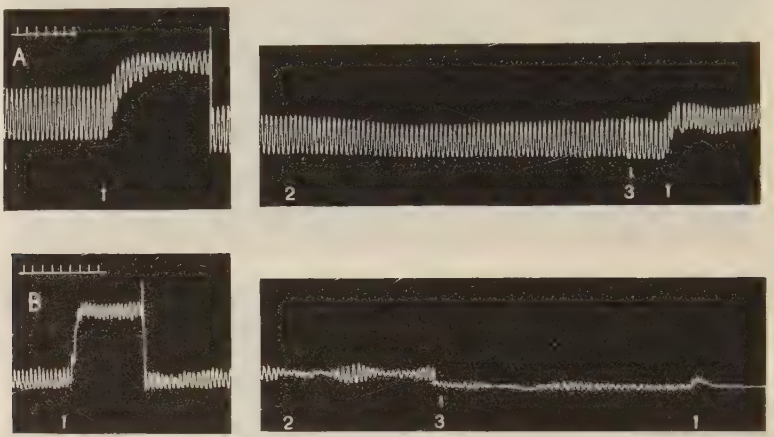


Abb. 2. Wirkung des NaCN auf den isolierten Kaninchendünndarm und die Acetylcholinwirkung. A in glykosehaltiger Tyrodelösung; B in glykosefreier Tyrodelösung. 1. Acetylcholin HCl $1 \cdot 10^{-6}$; 2. NaCN $6 \cdot 10^{-6}$; 3. Nach 7 min, Zeit = 6 sec.

Natriumjodacetat. Das Natriumjodacetat hemmt die Dehydrogenase des Triosephosphats und damit die glykolytischen Prozesse des Cyclus von Embden-Meyerhof (Adler u. Mitarb.[1]; Dixon[7]; Green u. Mitarb.[14]). Hier handelt es sich um eine spezifische Hemmung bei niedrigen Jodacetatkonzentrationen, jedoch nicht mehr bei hohen Konzentrationen, da diese die Sulfhydrylgruppen beeinflussen (Dixon[7]; Green u. Mitarb.[14]). Freilich kann man noch nicht mit Sicherheit ausschließen, daß auch die Blockierung der Dehydrogenase des Triosophosphats durch Sulfhydrylhemmung zustandekommt.

In Gegenwart von Glykose und im sauerstoffhaltigen Milieu werden die spontanen Kontraktionen und der Tonus der Darmstücke durch Jodacetat $2 \cdot 10^{-5}$ vermindert, doch erfährt die durch Acetylcholin $1 \cdot 10^{-6}$- bedingte Kontraktion keine Veränderung gegenüber der Kotrolle, während der Tonus nach wenigen Minuten sinkt. Auch ohne Glykose übt das Jodacetat keinen Einfluß auf die Acetylcholinkontraktion ($1 \cdot 10^{-6}$) aus, trotzdem es die spontane Beweglichkeit rascher deprimiert; die Wirkung ist weniger markiert und das Organ erfährt eine rasche Entspannung (Abb. 4).

2,4-Dinitrophenol. Das 2,4 Dinitrophenol gehört jenen Substanzen an, die als „uncoupling agents" (McElroy[18]) beschrieben werden, da sie imstande sind die

Fixierung des anorganischen Phosphats zu verhindern oder zu blockieren, ohne dabei die Reaktionen zu stören, die mit diesem verbunden sind (Cross u. Mitarb.[6]; Loomis u. Lipmann[7]; Spiegelman u. Kamen[22]; Spiegelman u. Mitarb.[23]; Stannard[24, 25]). Diese Reaktionen sind in zahlreichen Monographien zusammengefaßt (Lardy[16]; Meyerhof[20]; Ochoa[21]).

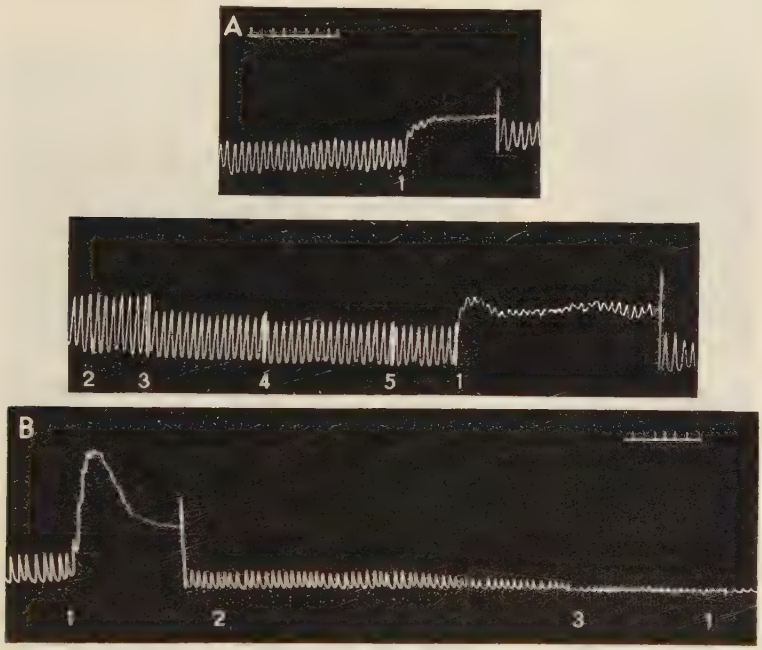


Abb. 3. Wirkung des Natrium-Fluoracetat auf die durch Acetylcholin bewirkte Kontraktion des isolierten Kaninchendünndarms. A in glykosehaltiger Tyrodelösung; B in glykosefreier Tyrodelösung. 1. Acetylcholin HCl $1 \cdot 10^{-6}$; 2. Fluoroacetat $2 \cdot 10^{-5}$; 3. nach 5 min; 4. nach 10 min; 5. nach 15 min. Zeit = 6 sec.

An isolierten Kaninchendarmstücken stellt sich unter dem Einfluß von 2,4-Dinitrophenol ($2 \cdot 10^{-5}$; $1 \cdot 10^{-5}$) in glykose- und sauerstoffhaltiger Tyrodeflüssigkeit zuerst eine Erhöhung des Tonus und der spontanen Kontraktionen ein, der später wieder eine Verminderung und eine gewisse Entspannung folgt. Während Acetylcholin $1 \cdot 10^{-6}$ nur eine schwache Kontraktion der mit Dinitrophenol $1 \cdot 10^{-5}$ behandelten Darmmuskulatur verursacht, ist es vollends wirkungslos gegenüber der mit $2 \cdot 10^{-5}$ behandelten. Unter den gleichen experimentellen Bedingungen wurde nach Verringerung der spontanen Kontraktionen durch Dinitrophenol ATP* $4 \cdot 10^{-5}$ hinzugefügt, worauf eine weitere Abnahme der Kontraktionen, manchmal sogar ein Stillstand erfolgte. Die darauffolgende Zugabe von Acetylcholin $1 \cdot 10^{-6}$ löste eine sehr starke

* Natriumsalz des ATP der Firma Vister.

Kontraktion aus, die oft diejenige der Kontrolle übersteigt, dagegen nur kurz anhielt (Abb. 5). In Abwesenheit von Glykose setzt Dinitrophenol in gleichen Konzentrationen rasch die spontanen Kontraktionen und den Tonus herab, und auch in diesem Falle fehlt die Wirkung des Acetylcholins. Das ATP $4 \cdot 10^{-5}$ ist unter denselben experimentellen Bedingungen nicht imstande, die Sensibilität des Darms gegenüber Acetylcholin wieder herzustellen.

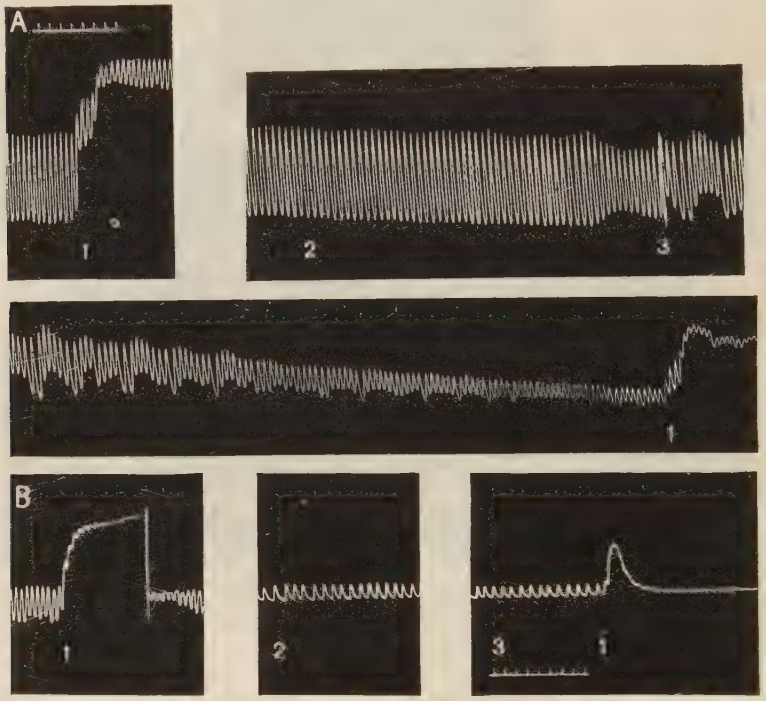


Abb. 4. Wirkung des Natrium-Jodacetat auf die durch Acetylcholin auf den isolierten Kaninchendünndarm bewirkte Kontraktion. A in glykosehaltiger Tyrodelösung; B in glykosefreier Tyrodelösung. 1. Acetylcholin HCl $1 \cdot 10^{-6}$; 2. Jodacetat $2 \cdot 10^{-5}$; 3. nach 10 min, Zeit = 6 sec.

Diskussion.

Die durch Acetylcholin bedingte Kontraktion wird in der durch Stickstoff oder NaCN hervorgerufenen Anoxiephase nicht verhindert, wenn nur eine anaerobe Energiequelle vorhanden ist.

Fluoracetat als Inhibitionsmittel des Muskelstoffwechsels ist von vielen Verff. in Erwägung gezogen worden, wie Chenoweth[4]; Farah u. Mitarb.[12]; Furchgott[31]; Weeks u. Mitarb.[26]; Clarke u. Richer[5]; Ellys[9, 10, 11]. Anfänglich wurde es für ein kompetitives Inhibitionsmittel des Acetats gehalten (Barlett u. Barron[2]), während in letzter Zeit Martius[19], sowie Buffa u. Peters[3] die Tatsache geklärt haben, daß es in der gleichen Weise wie das Acetat umgesetzt wird, und zwar durch Bildung einer Verbindung, die die weitere Oxydation des Citrats blockiert, nämlich

Fluorcitrat. Dieses Fluorcitrat ist in dem mit den Fluoracetat behandelten Geweben als tatsächlich gegenwärtig erwiesen worden (ELLIOTT u. KALNITSKY[8]). Das Fluoracetat wird nunmehr als ein Mittel angesehen, das durch seine Reaktion im tricarboxylischen KREBSschen Cyclus die weitere Oxydation des Citrats blockiert (BUFFA u. PETERS[3]). Dies scheint sich spezifisch gerade auch an der Kontraktion der glatten Muskulatur durch Acetylcholin auszuwirken.

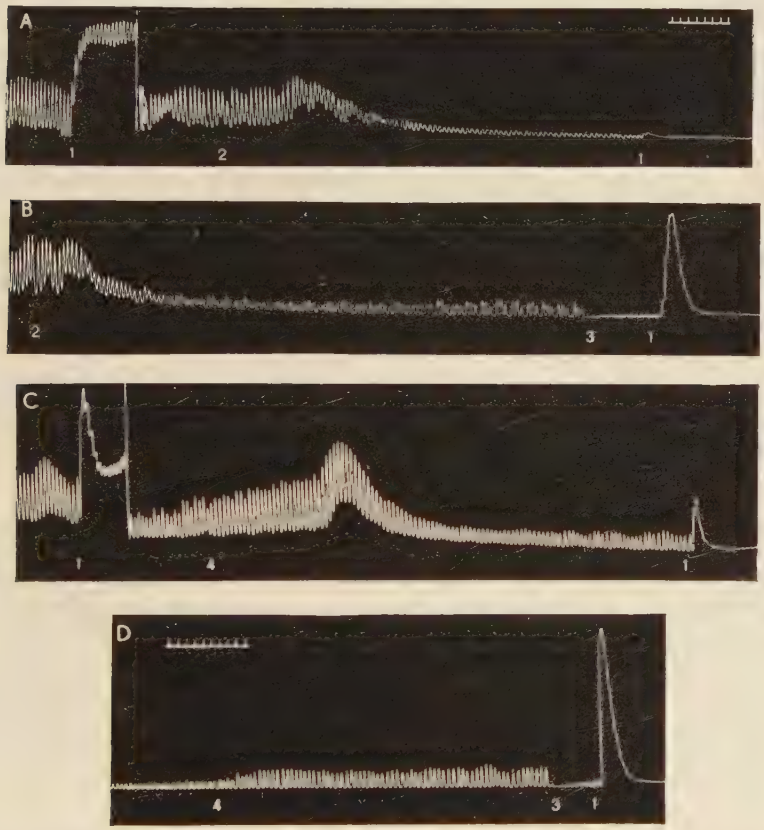


Abb. 5. Wirkung des 2,4-Dinitrophenol auf die durch Acetylcholin auf den isolierten Kaninchendünndarm bewirkte Kontraktion. A, B, C, D in glykosehaltiger Tyrodelösung. 1. Acetylcholin HCl $1 \cdot 10^{-4}$; 2.Dinitrophenol $2 \cdot 10^{-5}$; 3. ATP $4 \cdot 10^{-5}$; 4. Dinitrophenol $1 \cdot 10^{-5}$, Zeit = 6 sec.

Die erhaltenen Resultate bestätigen diejenigen von FARAH u. Mitarb.[12]: nur in glykosefreier Tyrodeflüssigkeit fehlt die Reaktion des Muskels auf Acetylcholin, was beweist, daß trotz Blockade des KREBSschen tricarboxylischen Cyclus die von der Glykose gelieferte Energie genügt, um die Kontraktion auf Acetylcholin zu erhalten.

Wenn andererseits der glykolytische EMBDEN-MEYERHOFsche Cyclus mit Jodacetat blockiert wurde, aber wenigstens der tricarboxylische

Krebssche Cyclus frei blieb, wurde die Reaktion auf Acetylcholin ebenfalls aufrecht erhalten. Man kann daraus folgern, daß die durch den glykolytischen Stoffumsatz gelieferte Energie für die Acetylcholinwirkung nicht unbedingt wesentlich ist.

Die durch Anwendung von Hemmungsmitteln der verschiedenen Stoffwechselcyclen erzielten experimentellen Ergebnisse beweisen uns, daß die an der glatten Muskulatur durch Acetylcholin hervorgerufene Kontraktionswirkung nicht von *einer* Energieform abhängt, die sich aus *besonderen* Stoffwechselvorgängen ergäbe, wie es etwa der oxydative oder der tricarboxylische Cyclus oder die Glykose wären.

Doch beweist die Unfähigkeit des Acetylcholins, nach der Vergiftung durch Dinitrophenol seine Wirkung auszuüben, daß es an der Umwandlung der von den Phosphaten stammenden reichlichen Energie in mechanische Arbeit beteiligt ist.

Tatsächlich gelingt es nur durch Verabreichung von Phosphatestern wie ATP, dem mit Dinitrophenol vergifteten Muskel seine Kontraktionsfähigkeit unter Acetylcholinwirkung zurückzugeben.

Demzufolge ist also anzunehmen, daß gerade auf diesem Gebiete der Zellaktivität der wesentliche Angriffspunkt für die pharmakologische Wirkung des Acetylcholins vorliegt.

Zusammenfassung.

Einige Hemmungsmittel des intermediären Stoffwechsels (Anoxie, NaCN, Natriumfluoracetat, Natriumjodacetat, 2,4-Dinitrophenol) wurden am isolierten Dünndarm des Kaninchens auf ihren Einfluß auf die durch Acetylcholin bewirkten Kontraktion geprüft.

Aus den Befunden war zu folgern, daß die auf die glatte Muskulatur durch das Acetylcholin ausgeübte kontrahierende Wirkung nicht von einer Energie abhängt, die sich aus *besonderen* Stoffwechselprozessen herleitet, sondern die einfach aus den energiereichen Phosphaten stammt.

Literatur.

[1] Adler, E., H. v. Euler u. G. Gunther: Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) **80**, 1 (1938). — [2] Barlett, G. R., and E. S. G. Barron: J. of Biol. Chem. **170**, 67 (1947). — [3] Buffa, P., and R. A. Peters: J. of Physiol. **110**, 488 (1950). — [4] Chenoweth, M. B.: Pharmacol. Rev. **1**, 383 (1949) — [5] Clarke, D. A., and W. F. Riker jr.: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **99**, 118 (1950). — [6] Cross, R. J., J. V. Taggart, G. A. Covo and D. E. Green: J. of Biol. Chem. **177**, 655 (1949). — [7] Dixon, M.: Nature (Lond.) **140**, 806 (1937). — [8] Elliot, W. B., and G. Kalnitsky: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **9**, 168 (1950). — [9] Ellys, S., and H. L. Anderson: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **103**, 342 (1951). — [10] Ellys, S.: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **105**, 381 (1952). — [11] Ellys, S.: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **109**, 233 (1953). — [12] Farah, A., T. C. West and R. Angel: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **98**, 234 (1950). — [13] Furchgott, R. F.: J. Pharmacol.

a. Exper. Ther. **99**, 1 (1950). — [14] Green, D., D. Needham and J. G. Dewan: Biochemic. J. **31**, 2327 (1937). — [15] Issekutz, B., jr., I. Lichtneckert, Zs. Gáspár-Németh, G. Hetényi jr., A. Diósy u. G. Pálkó: Acta Phys., Acad. Sci. Hung. **2**, 403 (1951). — [16] Lardy, H. A.: Respiratory Enzymes. Minneapolis: Burgess Publ. Co., 1949. — [17] Loomis, W. F., and F. Lipmann: J. of Biol. Chem. **173**, 807 (1948). — [18] McElroy, W. D.: Quart. Rev. Biol. **22**, 25 (1947). — [19] Martius, C.: Ann. **561**, 227 (1949). — [20] Meyerhof, O.: Ann. New York Acad. Sci. **47**, 815 (1947). — [21] Ochoa, S.: Ann. New York Acad. Sci. **47**, 835 (1947). — [22] Spiegelman, S., and M. D. Kamen: Federat. Proc. **5**, 99 (1946). — [23] Spiegelman, S., M. D. Kamen and R. Dunn: Federat. Proc. **5**, 99 (1946). — [24] Stannard, J. N.: Amer. J. Physiol. **126**, 196 (1939). — [25] Stannard, J. N.: Amer. J. Physiol. **135**, 238 (1941). — [26] Weeks, J. R., M. B. Chenoweth and F. E. Shideman: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **98**, 224 (1950). — [27] Wollenberger, A., and M. L. Larsh: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **105**, 477 (1952).

Dr. A. Porro, Padua (Italien), Pharmakol. Institut d. Univ.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 224, S. 232—242 (1955).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Freien Universität Berlin und der Inneren Abteilung des Städt. Krankenhauses Berlin-Reinickendorf.

Über die Beeinflussung der enteralen Natrium- und Kaliumbindung an Kationenaustauscher*.

Von

W. Koransky und M. Wolf.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 30. Juli 1954.)

1946 wies W. Dock erstmalig im Tierversuch nach, daß Kationenaustauscher im Darmtrakt wesentliche Mengen an Natrium binden können. Die therapeutischen Möglichkeiten, die sich aus dieser enteralen Na-Bindung und Na-Ausscheidung im Kot ergeben, sind in den folgenden Jahren in zahlreichen experimentellen und klinischen Arbeiten untersucht worden (L. Irwin, E. Y. Berger, B. Rosenberg, R. Jackenthal; J. E. Wood, D. H. Ferguson, P. Lowrance; W. C. Klingensmith, J. R. Elkinton; H. Dietrich, H. Herken, M. Wolf; H. Herken, M. Wolf, 1952; H. Herken, 1953). Die physikalisch-chemischen Gesetzmäßigkeiten der Ionenbindung an Austauscher sind weitgehend bekannt und haben wie in übersichtlichen chemischen Systemen in vitro gleichfalls ihre Gültigkeit beim Ionenaustausch im biologischen Milieu des Darminhalts. Sehr verschieden werden jedoch eine ganze Zahl von Faktoren beurteilt, welche die bei der Behandlung der Wasser- und Salzretention erwünschte hohe Na-Beladung der Austauscher beeinflussen. Wir haben einige dieser Fragen in Selbstversuchen und an einer Patientin mit starker Wasser- und Salzretention in Bilanzversuchen zu klären versucht[1].

Methodik.

Die bei unseren Versuchen verwendeten Kationenaustauscher[2] waren Kunstharze aus Polystyrolsulfosäuren, die mit Kationen verschieden beladen wurden. Um Kaliumverluste zu vermeiden, erhielten alle verwendeten Austauscherpräparate eine Vorbeladung mit Kalium von 1,6 mval pro g Austauscher. Während bei dem Präparat, das die gesunden Versuchspersonen bekamen, der Rest der Kapazität

* Ein Teil der Bilanzanalysen wurde in Vorträgen gebracht von: H. Herken auf Tagungen der Med. Gesellschaften in Göttingen und Marburg (1953), und M. Wolf auf der Tagung der Gesellschaft f. Inn. Med. in Wiesbaden 1953.

[1] Herrn Chefarzt Doz. Dr. J. A. Schneider danken wir für das der Arbeit entgegengebrachte Interesse.

[2] Für die Überlassung des Austauscherpräparates „Natrantit" sind wir der Fa. Dr. Siegmund & Co, Berlin-Mariendorf, zu Dank verpflichtet.

von etwa 2,9 mval mit Ammonium beladen wurde, war die restliche Kapazität des Austauschers für die Pat. mit der Lebercirrhose mit H-Ionen abgesättigt, da in solchen Fällen Intoxikationserscheinungen durch Ammoniumionen beschrieben sind (G. J. Gabuzda, G. B. Phillips, Ch. S. Davidson). Weiterhin enthielten die Präparate stets einen Zusatz von 10% des Trockengewichts an Methylzellulose.

Der Feuchtigkeitsgehalt wurde bestimmt durch Trocknen einer Probe bei 110° C bis zur Gewichtskonstanz. Hierbei zeigten sich durchschnittlich Gewichtsverluste von 15—20%.

Die Diät der Versuchspersonen war so gewählt, daß eine Gesamtzufuhr an Na von 0,6 g pro Tag nicht überschritten wurde. Während der Versuche faßten wir jeweils drei Tage zu einer Bilanzperiode zusammen und bestimmten die Mineralien in Speisen, Getränken, Stuhl, Urin und Austauscher in einer Durchschnittsprobe aus dem Gemisch der während der drei Tage gesammelten Einzelportionen.

Im Einzelnen wurde dabei so vorgegangen:

Speisen: Die Versuchsperson konnte von allen Speisen ad libitum nehmen und gab gleichzeitig jeweils dasselbe Quantum, das sie auf ihren Teller nahm, in ein dafür bereitgestelltes Gefäß. Die Gesamtmenge des über 3 Tage Gesammelten wurde in einer Kolloidmühle völlig homogenisiert, eine Probe mit Schwefelsäure-Perhydrol verascht und die Mineralien flammenphotometrisch bestimmt. Getränke: Es wurden nur Kaffee und Tee verabreicht. Die Na- und K-Bestimmung erfolgte direkt ohne vorherige Veraschung. Stuhl: Es wurde stets darauf geachtet, daß der Stuhl eine weiche Konsistenz behielt, eventuell durch Gabe von Laxantien (Istizin, Ricinus). Der 3-Tage-Stuhl wurde mit einem Gummipistill bis zur völligen Homogenität verrieben und dann mit destilliertem Wasser vom Austauscher abgeschwemmt. Eine Umladung des Austauschers war nicht anzunehmen, da bei diesem Verfahren nur eine Verringerung der absoluten Konzentrationen der im Stuhl enthaltenen Kationen eintritt, während die für die Austauscherbeladung maßgebenden relativen Konzentrationen unverändert bleiben. Durch Vorversuche war diese Annahme bestätigt worden. In der Abschwemmflüssigkeit wurde nach Zentrifugieren Na und K direkt flammenphotometrisch bestimmt oder auch vor der Bestimmung mit Schwefelsäure-Perhydrol verascht. Durch die direkte Bestimmung entstand kein wesentlicher Fehler. Die Verluste an Austauscher waren bei vorsichtigem Arbeiten gering. Austauscher: Der sorgfältig gewaschene Austauscher wurde bei 110° C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, mit Schwefelsäure-Perhydrol verascht, und die Mineralien gleichfalls flammenphotometrisch bestimmt. Urin: Die Bestimmung erfolgte direkt ohne vorherige Veraschung.

Die flammenphotometrische Bestimmung von Na und K wurde mit einem stark abgeänderten Gerät der Fa. Dr. B. Lange durchgeführt. Für die mit Schwefelsäure veraschten Proben war eine besondere Eichung notwendig mit Na- und K-Lösungen, die den gleichen Schwefelsäurezusatz wie die Proben enthielten.

Das Chlor im Urin wurde bestimmt durch Titration mit Merkurinitrat nach K. Lang; G. Kuschinsky und H. Langecker.

Ergebnisse.

Drei gesunde Versuchspersonen erhielten zu ihrer Diät nach einer austauscherfreien Vorperiode von 2 Tagen täglich je 60 g Kationenaustauscher für die Dauer von 3 Tagen. In allen 3 Fällen ergab sich eine negative Na-Bilanz (Abb. 1). Zwar wurde die Na-Ausscheidung im Urin geringer gegenüber der Norm, aber bereits die Menge des mit dem Austauscher eliminierten Natriums überstieg die Zufuhr mit der Kost

erheblich. Außerden enthielt der Stuhl eine beträchtliche Menge an ungebundenem Na. Die K-Bilanz blieb durch die Austauschervorbeladung während des ganzen Versuches positiv.

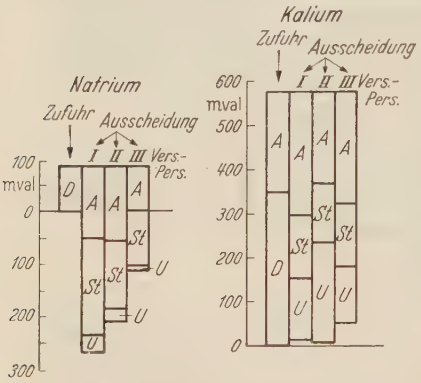


Abb. 1. Natrium- und Kaliumbilanz an 3 gesunden Vpn. Die Zufuhr ist von der O-Linie nach oben aufgetragen, die Ausscheidung von der Höhe der Zufuhr nach unten. Überschreitung der O-Linie nach unten bedeutet: negative Bilanz, freies Feld über der Nullinie zeigt positive Bilanz an.

Obwohl die Versuchsbedingungen für alle Personen möglichst gleich gehalten waren, zeigten sich in der Größe der Na-Ausscheidung sowie in der Austauscherbeladung ziemliche Differenzen zwischen den Versuchspersonen, besonders zwischen Vp. 1 und Vp. 3. In Abb. 2 ist die Zahl der Stuhlentleerungen der einzelnen Vpn. und ihre zeitliche Folge in Beziehung gesetzt zur Beladung des jeweils ausgeschiedenen Austauschers. Hierbei ist deutlich zu erkennen, daß der Austauscher der Vp., welche die größte Zahl von Defäkationen hatte, die höchste Beladung aufwies, während umgekehrt bei wenigen Stuhlentleerungen eine geringere Beladung resultierte. Außerdem ist fast stets nach längeren Defäkationspausen die Beladung abgesunken und steigt an, wenn die Stuhlentleerungen in kürzeren Zeitabständen aufeinanderfolgen.

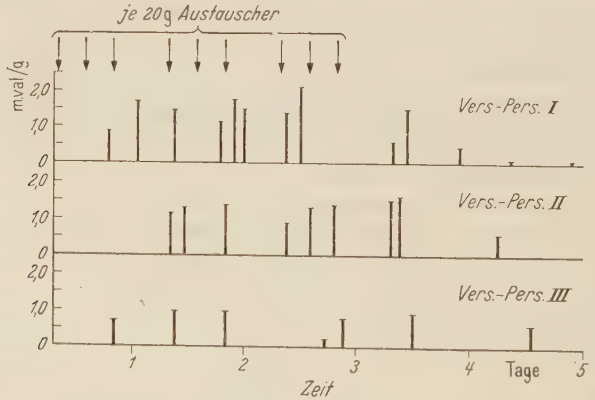


Abb. 2. Abszisse: Zahl und zeitliche Folge der Defäkation der einzelnen Vpn. Ordinate: Na-Beladung des Austauschers in mval/g.

Die langfristigen Bilanzversuche wurden durchgeführt an einer Patientin mit klinisch gesicherter Lebercirrhose und starker Ascitesbildung. Außerdem bestand ein mäßiger Diabetes, der keine Insulinbehandlung erforderte.

Die Pat. wurde ernährt mit einer Zucker-Standarddiät, deren Na-Gehalt 0,6 g Na pro Tag im Durchschnitt nicht überstieg. Dazu erhielt sie 60 g Austauscher täglich. Die Flüssigkeitszufuhr war nicht beschränkt. Der Therapie mit Austauscher war eine längere klinische Behandlung vorhergegangen mit salzarmer Trockenkost, Leberextrakten und hohen Dosen von Hg-Diuretika, die keinerlei Wirkung zeigten, so daß mehrere Paracentesen notwendig waren. Der schlechte Zustand der Pat. erlaubte keine Bilanz-Vorperiode vor dem Einsetzen der Austauscherbehandlung.

Aus Abb. 3 ist der Verlauf des Bilanzversuches zu erkennen. Sogleich nach Einsetzen der Austauschertherapie wird die Na-Bilanz negativ, während die K-Bilanz schwach positiv wird oder ausgeglichen bleibt. Damit ist eine starke Gewichtsabnahme verbunden von insgesamt 21,5 kg im Verlauf des ganzen Versuches. Der anfänglich enorme Ascites verschwindet im Laufe der Behandlung fast vollständig. Die Hauptmenge des Na wird mit dem Stuhl ausgeschieden, die Ausscheidung beträgt zeitweise mehr als das Doppelte der Na-Zufuhr mit der Kost. Aus dem Gesamtverlust an Na läßt sich eine Wasserausschwemmung von etwa 18 Litern berechnen, wenn man einen Gehalt von 3 g Na pro Liter retinierter Flüssigkeit zugrunde legt. Diesem berechneten Wasserverlust entspricht die Gewichtsabnahme bei Abrechnung des Verlustes während der Bilanzpause ziemlich gut.

Die im Verlaufe der Untersuchung mehrfach vorgenommenen Kontrollen der Serum-Na und K-Konzentration ergaben stets normale oder von der Norm kaum abweichende Werte von durchschnittlich 305 mg% = 133 mval/l Na und 16 mg% = 4,1 mval/l K. Das CO_2-Bindungsvermögen des Serums lag durchschnittlich bei 40 Vol.% = 18 mval/l.

Es erscheint auch hier besonders auffällig, daß während der Behandlung mit Austauscher im Stuhl größere Mengen freien, nicht an den Austauscher gebundenen Natriums ausgeschieden werden, während unter normalen Umständen täglich nur etwa 100 mg Na im Kot enthalten sind. Dieser Gehalt an freiem Na kehrt zur Norm zurück, wenn kein Austauscher mehr gegeben wird oder wenn unter der Austauscherbehandlung Obstipation eintritt. Außerdem ist auch hier, wie bei den gesunden Versuchspersonen, zu erkennen, daß mit dem Auftreten von Obstipation unter der Therapie die Austauscherbeladung sofort absinkt, während gleichzeitig die Na-Bilanz positiv wird und das Körpergewicht durch Retention von Wasser ansteigt. Dieser enge Zusammenhang zwischen Wasser- und Na-Haushalt zeigt sich besonders deutlich am Ende des Bilanzversuches. Die Patientin erhielt 8 g Kochsalz in einer Dosis und retinierte diese Menge beinahe vollständig. Die gleichzeitig eintretende Gewichtszunahme von fast 1 kg innerhalb von 24 Std demonstriert deutlich, daß die Wasserretention der Salzretention sehr genau entspricht.

Während vor der Austauschertherapie die Gabe von Hg-Diuretica ohne jeden Erfolg blieb, setzten unter der Austauscherbehandlung nach

Applikation von 1 cm³ Novurit i.v. regelmäßig starke Diuresen mit Urinmengen bis zu 5 Litern pro Tag ein. In diesen Urinen wurde Na, K und auch Chlor gesondert bestimmt; das Ergebnis dieser Bestimmungen ist

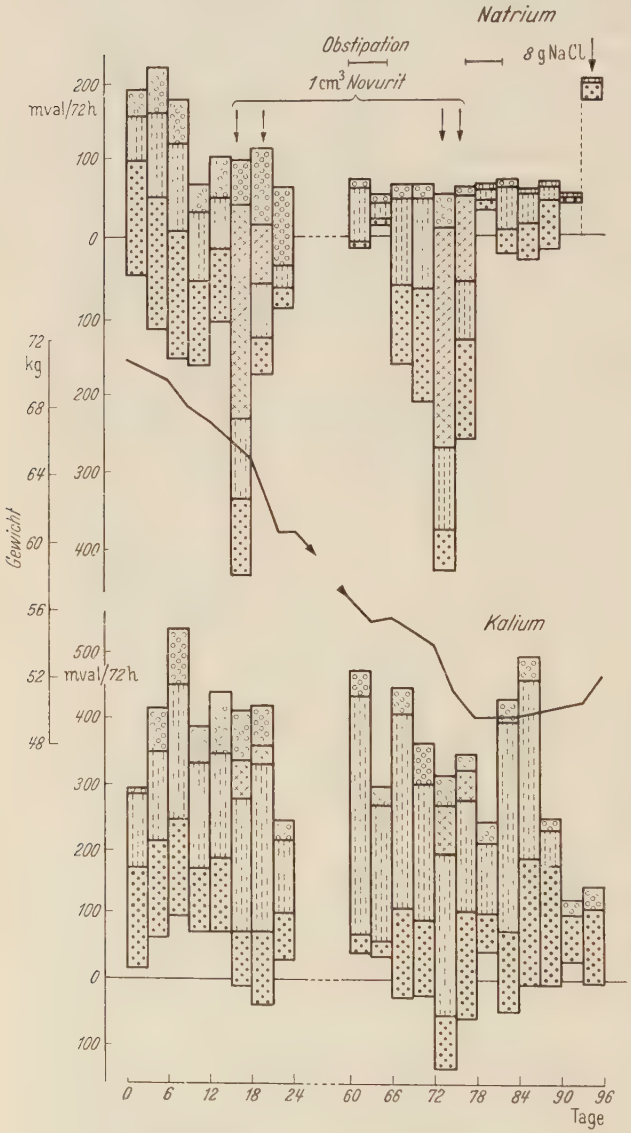


Abb. 3. Natrium- und Kaliumbilanz und Gewichtskurve bei einer Pat. mit Lebercirrhose mit Ascites. Die Höhe der Säulen über der O-Linie ergibt die Größe der Zufuhr. Die Ausscheidung ist von der Höhe der Zufuhr nach unten aufgetragen.

Urin

Austauscher

Urin unter Hg-Wirkung

Stuhl ohne Austauscher

zur Diskussion in Tab. 1 dargestellt. Hier soll darauf hingewiesen werden, daß jeweils bei Gabe von Hg-Diuretica die sonst positive K-Bilanz negativ wird.

Tabelle 1.
Lebercirrhose mit Ascites. Ausscheidung der Mineralien im Urin unter Hg-Diuretica.

Nr.	Urin cm³	Na mval/l	K mval/l	Cl mval/l
1	3200	84	17	121
2	2200	43	18	74
3	2650	96	19	104
4	5580	87	22	107
Serumnormalwerte		140	5	95

Diskussion.

Bei unseren Versuchen fällt auf, daß außer dem am Austauscher gebundenen Na noch beträchtliche Mengen an freiem Na zu finden sind. Unter normalen Umständen werden im Stuhl täglich nur etwa 4 mval ausgeschieden. Zwar war die Kotausscheidung durch Laxantien etwas beschleunigt und es ist bekannt, daß in Durchfallstühlen mehr Na als normal gefunden wird, besonders bei Säuglingen, wo der Mechanismus der Rückresorption noch nicht voll entwickelt ist. Jedoch sind Steigerungen der Ausscheidung, wie wir sie finden, allein durch Durchfall unwahrscheinlich. Ein ähnlicher Befund wurde von McChesney in Tierversuchen an Ratten erhoben. Eine plausible Deutung ist jedoch von ihm nicht versucht worden.

Wir haben eine Erklärung mit folgenden Überlegungen versucht: Den Dünndarm passieren pro Tag etwa 800 mval Na und 80 mval K, während im Stuhl etwa 4 mval Na und 15 mval K ausgeschieden werden. Das bedeutet, daß vom Na mehr als 99%, vom K nur etwa 80% rückresorbiert werden. Das Ausmaß der Resorption des Na ist also wesentlich größer als das der Resorption des K. Das ursprüngliche Verhältnis Na : K von 10 : 1 kehrt sich im Laufe der Passage um in 1 : 5. Die Beladung des Austauschers hängt aber vorwiegend von dem Verhältnis der Konzentration der Ionen im umgebenden Medium ab. Die Einstellung des aus diesen Konzentrationsverhältnissen resultierenden Gleichgewichts zwischen frei beweglichen und gebundenen Ionen erfolgt bei dem hier benutzten Austauscher in wenigen Minuten. Er müßte daher im Duodenum zwar hoch mit Na beladen sein, jedoch bei Ausscheidung mit dem Stuhl praktisch kein Na sondern vorwiegend K besitzen, zumal seine Affinität zum K und allen anderen im Stuhl vorkommenden Kationen größer ist als die zum Na. Eine solche Beladung im Kot wird tatsächlich gefunden, wenn der Austauscher unphysiologisch lange im Dickdarm verweilt (H. Dietrich, H. Herken, M. Wolf 1953), während aus Ileocöcalfisteln gewonnener Austauscher eine Na-Beladung von etwa 3 mval/g zeigte (H. Herken, R. Hempel). Es ist daher anzunehmen, daß das Ausmaß der Rückresorption des Na abhängig ist von der Geschwindigkeit der Passage der Ingesta, also einen zeitlich begrenzten Vorgang darstellt. Bei normaler Geschwindigkeit der Passage wird fast das gesamte Na durch die Darmwand wieder aufgenommen; bei beschleunigter Passage entgeht je nach der Geschwindigkeit mehr oder weniger Na der Rückresorption. Enthalten die Ingesta nun zusätzlich noch mit Na hoch beladenen Austauscher, so fungiert dieser als Speicher und ersetzt aus der Bindung freigebend jeweils einen großen Teil des rückresorbierten Na und bindet gleichzeitig eine

äquivalente Menge anderer Kationen, vorwiegend K. Es bleibt daher die Na-Konzentration des Darminhalts stets auf einer gewissen Höhe erhalten. Bei verhältnismäßig großer Passagegeschwindigkeit reicht dann die Resorptionsfähigkeit des Darmes nicht aus zur völligen Rückresorption des vom Austauscher laufend freigegebenen Na. Daher enthält der Kot bei Anwendung von Austauscher neben gebundenem eine verhältnismäßig große Menge an freiem Na.

Sowohl aus früheren Arbeiten (H. Herken, 1953; H. Dietrich, H. Herken, M. Wolf, 1953) als auch aus den hier mitgeteilten Befunden ist zu erkennen, daß die beschleunigte Passage der Ingesta durch den Darm die wichtigste Bedingung für eine hohe Na-Beladung des Austauschers ist. H. Dietrich et al. fanden, daß bei verschiedener Verweildauer im Magen-Darmtrakt die Beladung des Austauschers um den 10fachen Betrag variieren kann. Hieraus ist zu sehen, daß bei Prüfung der Bedingungen für die Austauscherbeladung nur solche experimentellen Befunde vergleichbar sind, die bei weitgehend einheitlicher Passagegeschwindigkeit gewonnen wurden. Aus der Vernachlässigung dieser Tatsachen erklären wir uns verschiedene Schwierigkeiten anderer Autoren bei der Deutung ihrer Befunde.

So hat L. E. Duncan auf Grund von Bilanzversuchen angenommen, daß bei Gesunden und Kranken die Austauscherbeladung von 2 verschiedenen Faktoren abhängig sei. Bei Gesunden soll die Na-Beladung der Na-Zufuhr entsprechen. Bei Patienten mit Ödemen werde die Beladung dann vom Ausmaß der Ödeme bestimmt. Bei starken Ödemen soll die Austauscherbeladung hoch sein und mit zunehmender Ausschwemmung stetig geringer werden. Demgegenüber war in eigenen Versuchen bei einer Kost mit 1,5 g Na pro Tag bei Gesunden die Austauscherbeladung nicht höher als bei Zufuhr von 0,3 g Na pro Tag bei Einhaltung gleicher Verweildauer (W. Koransky, M. Wolf). Das gleiche Verhalten wird aus den hier anfangs mitgeteilten Versuchen an den gesunden Versuchspersonen ersichtlich. Bei der Patientin mit Wasserretention fanden wir ebenfalls keine Abhängigkeit der Na-Beladung von dem Ausmaß des Ascites. So zeigen die Werte der Tab. 2 eine gleichmäßige Austauscherbeladung, unabhängig von der Änderung des Körpergewichts, das die Ausschwemmung von etwa 21 Litern Wasser anzeigt. Aus diesen Zahlen geht jedoch hervor, daß hier ebenso wie bei den Gesunden die Verweildauer des Austauschers im Darm für die Beladung entscheidend ist. Eine Ausscheidung von etwa 100 g Austauscher pro Periode entspricht etwa der zugeführten Menge. Werden dagegen in einer Periode nur 53 g und in der nachfolgenden 153 g ausgeschieden, so läßt sich daraus auf eine vorübergehende Verlangsamung der Passage schließen. Dementsprechend war hier die Beladung mit etwa 0,3 mval pro Gramm wesentlich geringer. Diese Veränderung der Beladung schwankt in unseren Versuchen im Verhältnis 1:8, wenn wir die Art der Berechnung von Duncan zugrunde legen, bei seinen Bilanzen jedoch

nur im Verhältnis 1:1,3. Diese geringen Beladungsänderungen ohne Berücksichtigung der Verweildauer, die er zum Beweis seiner Theorie heranzieht, können daher nicht überzeugen.

Tabelle 2. *Lebercirrhose mit Ascites. Vgl. Abb. 3. Austauscherbeladung bei verschiedenen Ödemgraden.*

Periode Nr.	Austauscher-beladung mval/g	Austauscher-ausscheidung g	Körpergewicht kg
2	0,95	88	70
4	0,84	97	67
13	1,12	96	52
14	0,76	101	51
15	0,25	53	49
16	0,36	153	49

Ebenso wie Duncan kommen J. Fabre u. W. Bachmann; F. M. Mateer, L. H. Erhard, M. Price, F. A. Weigand, J. H. Peters, T. S. Danowski, R. Tarail, L. Greenmann zu dem Ergebnis, daß die Beladung des Austauschers und damit die Größe der Na-Ausscheidung direkt abhängig ist von der Menge des mit der Kost zugeführten Na. Nach J. Fabre (1953) soll im Kot trotz großer Austauscherdosen keine nennenswerte Menge an Na ausgeschieden werden, wenn die Na-Zufuhr unter 1 g Na pro Tag absinkt. Dieser Autor glaubt sogar, daß ein Entzug von Kochsalz über den Darm kaum möglich sei durch Kombination von streng salzarmer Diät mit Anwendung von Austauschern.

Diese primäre Beeinflussung der Austauscherbeladung durch den Na-Gehalt der Kost erscheint jedoch unwahrscheinlich, wenn man beachtet, daß mit etwa 8 Litern Verdauungssekreten pro Tag etwa 20 g Na in den Darm abgesondert werden, während die normale Zufuhr 5 g Na nicht übersteigt, bei salzarmer Diät noch wesentlich darunter liegt. Wenn also die Menge des sezernierten Na die des zugeführten um ein Mehrfaches übertrifft, dann ist durch diese Konzentrationsänderungen nur eine geringe Variation der Austauscherbeladung im Dünndarm zu erwarten. Andererseits muß jedoch auch der Ablauf von sekundären Regulationsvorgängen möglich sein, welche die Austauscherbeladung vermindern können. Bei lange fortgesetzter Therapie mit Austauschern würden sonst Na-Mangelerscheinungen auftreten. Bei allen Autoren besteht jedoch Einmütigkeit darüber, daß ein „low salt syndrome" durch Austauscherbehandlung nie beobachtet wird, wenn nicht zusätzliche Komplikationen wie Nierenversagen usw. auftreten.

Solche Regulationen sind auf verschiedenen Wegen möglich, 1. durch Verminderung der Menge der Sekretionsflüssigkeiten in den Darm, 2. durch Verringerung der Na-Konzentration in diesen Sekretionsflüssigkeiten und 3. durch Verstärkung der Na-Rückresorption. Für den Ablauf solcher Vorgänge spricht eine Anzahl von

Argumenten, über Einzelheiten ist jedoch noch wenig bekannt. Aus den hier mitgeteilten Ergebnissen und weiteren Versuchen (W. Koransky, M. Wolf) ergibt sich jedoch, daß diese Regulationen erst nach einer gewissen Latenzzeit wirksam werden, in welcher beim Gesunden wie beim Ödemkranken die Na-Beladung des Austauschers hoch ist, auch bei minimaler Na-Zufuhr unter Einhaltung der notwendigen übrigen Bedingungen. Beim Ödemkranken setzt wahrscheinlich eine solche Steuerung erst nach Ausschwemmung der Ödeme ein.

Entscheidend aber ist der Na-Gehalt der Nahrung für die endgültige Mineralbilanz. Der Austauscher besitzt eine begrenzte Aufnahme- bzw. Austauschfähigkeit für Kationen, die bei dem hier verwendeten Präparat etwa bei 4,5 mval pro Gramm Austauscher liegt. Unter therapeutischen Bedingungen stehen aber nur bis zu 1,5 mval pro Gramm für die Na-Bindung zur Verfügung, so daß mit der üblichen Dosis von 60 g pro Tag bis zu 2 g Na täglich mit dem Austauscher im Stuhl eliminiert werden können. Bei Ödemkranken, die noch eine relativ gute Na-Ausscheidung im Harn haben und nur wenig speichern, läßt sich mit mäßig Na-armer Kost eine negative Na-Bilanz erzielen, auch wenn die Kost mehr Na enthält, als der Austauscher binden kann. Bei Patienten aber, die maximal retinieren und nur noch wenige Milligramme Na täglich im Harn ausscheiden können, darf die Na-Zufuhr die Kapazität des Austauschers keinesfalls übersteigen. Solche Fälle mit maximaler Retention kommen besonders bei Lebercirrhosen vor. Auch bei unserer Patientin zeigte sich eine solche Tendenz. Die hier an die Kost zu stellende Bedingung, täglich nicht mehr als etwa 500 mg Na zuzuführen, ist schwierig einzuhalten, und das Versagen der Austauschertherapie ist in vielen Fällen darauf zurückzuführen, daß diese Karenz überschritten wird (K. Ulich, M. Wolf).

Der Befund, daß unter Quecksilbertherapie die sonst allgemein positive bzw. ausgeglichene K-Bilanz stets negativ wurde, wird verständlich, wenn man die großen K-Mengen beachtet, die in dieser Zeit im Harn ausgeschieden werden. Außerdem fällt auf, daß unter Hg der Harn im Verhältnis zum Wasser wenig Na, dagegen vermehrt Chlor enthält. Man muß bei der Betrachtung dieser Tatsachen davon ausgehen, daß die bei der Hg-Therapie ausgeschiedenen Mineralien zum größten Teil aus der Extracellularflüssigkeit stammen, insbesondere bei so extrem salzarmer Kost wie hier in unserem Fall. Mit 1 Liter Extracellularflüssigkeit müßten demnach ausgeschieden werden: 140 mval Na, 95 mval Cl und 5 mval K. Aus Tab. 1 ist ersichtlich, daß hier die Mengenverhältnisse andere sind. Wir fanden z. B. bei einer ausgeprägten Hg-Diurese von 5,6 Litern nur 87 mval Na, dagegen 107 mval Cl und 22 mval K pro Liter. Die Trinkmenge war in diesem Fall gering und ist gegenüber der Harnmenge von 5,6 Litern praktisch zu vernachlässigen. In der ausgeschiedenen Ödemflüssigkeit müßten in diesem Fall etwa enthalten sein: Insgesamt 770 mval Na, 525 mval Cl und 28 mval K. Tatsächlich

ausgeschieden wurden nur 485 mval Na; die Differenz von 285 mval muß größtenteils im Organismus verblieben sein, denn auch bei optimaler Beladung kann mit der therapeutischen Austauscherdosis von 60 g wenig mehr als etwa 60 mval Na eliminiert werden. Diese Befunde stimmen mit Angaben von G. T. Lesser, M. F. Dunning, F. H. Epstein, E. Y. Berger überein, die ebenfalls gefunden haben, daß bei einer Hg-Diurese auch ohne Austauscher im Verhältnis mehr Wasser als Na ausgeschieden wird. Dieses im Körper verbliebene Na macht es auch verständlich, daß Hg-Diuresen häufig von einer erneuten Wasserretention gefolgt werden. Die hier retinierten 285 mval Na würden einer Wasserspeicherung von etwa 2 Litern entsprechen. Die Ansicht, daß die vermehrte Wasserausscheidung durch Hg-Diuretika ausschließlich Folge der vermehrten Na-Ausscheidung sei, wird durch diese Befunde nicht gestützt. Weiterhin wurden 600 mval Cl ausgeschieden, während der eliminierten Wassermenge 525 mval entsprechen würden. Die so eintretenden Chlorverluste können bei langdauernder Anwendung von Hg-Diuretika zu Hypochlorämie und relativer Alkalose führen. Auch die K-Ausscheidung mit 121 mval übersteigt die aus der eliminierten Ödemflüssigkeit zu berechnende Menge von 28 mval um fast 100 mval. G. T. Lesser et al. haben bei starken Hg-Diuresen K-Verluste bis zu 8 g beobachtet. Es besteht also bei protrahierter Hg-Anwendung auch die Möglichkeit einer K-Verarmung des Organismus. Bei Summierung der ausgeschiedenen Na- und K-Ionen stehen 606 mval Kationen 600 mval Anionen gegenüber. Die vermehrte Anionenausscheidung ist hier also nicht wie gewöhnlich bei Acidosen durch Ammoniumbildung in der Niere ermöglicht worden, sondern durch Mobilisierung von Kalium aus dem Organismus. Betrachtet man jedoch die Mineralausscheidung unter Austauscher- und Quecksilbertherapie nicht nur am Tag der Einwirkung von Hg, sondern bestimmt die Bilanz unter Hinzurechnung der beiden folgenden Tage, so scheinen durch den Austauscher die durch das Hg hervorgerufenen unphysiologischen Ausscheidungsverhältnisse normalisiert zu werden. Das retinierte Na wird ausgeschieden und die K-Verluste werden aufgefüllt. Zur weiteren Klärung dieser Annahmen sind neue Versuche begonnen worden.

Zusammenfassung.

Bei 3 gesunden Versuchspersonen und einer Patientin mit Lebercirrhose mit starkem Ascites wurden Na- und K-Bilanzen unter Na-armer Diät und Gabe von Kationenaustauscher durchgeführt.

Die Austauscherbeladung mit Na war bei allen Versuchspersonen nur von der Passagegeschwindigkeit durch den Darm abhängig. Es zeigte sich keine Beeinflussung durch den Na-Gehalt der Diät um den Grad der Ödeme. Die K-Bilanzen waren in allen Fällen ausgeglichen.

Neben dem an den Austauscher gebundenem Na und K wurden größere Mengen an freiem Na und K im Stuhl gefunden. Eine Erklärung dieser Erscheinung wurde versucht.

Bei Ausschwemmung der Ödeme durch Kationenaustauscher entsprach das Quantum des eliminierten Natriums der ausgeschiedenen Wassermenge, während bei Applikation von Hg-Diuretika im Verhältnis zum Wasser Na retiniert wurde und K- und Cl-Verluste auftraten.

Herrn G. Pook und Herrn G. Münch sind wir für ihre Mithilfe bei der Durchführung der Versuche zu Dank verpflichtet.

Literatur.

McChesney, E. W.: Neutrality regulation mechanisms in rats receiving sulfonic ion exchange resin. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **79**, 531 (1952). — Dietrich, H., H. Herken u. M. Wolf: Die Behandlung kardialer Ödeme mit Kationenaustauschern. Ärztl. Wschr. **1952**, 549. — Enterale Natrium- und Kaliumbeladung des Kationenaustauschers „Natrantit" bei verschiedener Verweildauer im Magen-Darmtrakt. Klin. Wschr. **1953**, 178. — Dock, W.: Sodium depletion as a therapeutic procedure: The value of ion-exchange resins in withdrawing sodium from the body. Trans. Assoc. Amer. Phys. **59**, 282 (1946). — Duncan, L. E.: Effect of edema and dietary sodium on efficacy of sodium removal by cation exchange resin. Amer. Heart. J. **45**, 802 (1953). — Fabre, J., et W. Bachmann: L'emploi des échangeurs de cations dans le traitement des oedèmes. Schweiz. med. Wschr. **1952**, 131. — Fabre, J.: Les résines d'échange cationique. Journées Thérapeutiques des Paris, 211. Paris: G. Doin & Cie. 1953. — Gabuzda, G. J., G. B. Phillips and Ch. S. Davidson: Reversible toxic manifestations in patients wirh cirrhosis of the liver given cation-exchange resins.: New England J. Med. **246**, 124 (1952). — Herken, H., u. M. Wolf: Über die therapeutische Verwendung von Kationenaustauschern. Klin. Wschr. **1952**, 529. — Herken, H.: Ödembehandlung durch enterale Natriumbindung an Kationen-Austauscher. Ärztl. Wschr. **1953**, 807. — Herken, H., u. R. Hempel: Unveröffentlicht. — Irwin, L., E. Y. Berger, B. Rosenberg and R. Jackenthal: The effect of a cation exchange resins on electrolyte balance and its use in edematous states. J. Clin. Invest. **28**, 1403 (1949). — Klingensmith, W. C., and J. R. Elkinton: Cation exchange resin in the treatment of congestive heart failure. Circulation (New York) **5**, 842 (1952). — Koransky, W., u. M. Wolf: Unveröffentlicht. — Kuschinski, G., u. H. Langecker: Eine mercurimetrische Bestimmung des Chlorids im Harn. Biochem. Z. **318**, 164 (1948). — Lang, K.: Eine Verbesserung der Methodik der Chloridbestimmung im Blut. Biochem. Z. **290**, 289 (1937). — Lesser, G. T., M. F. Dunning, F. H. Epstein and E. Y. Berger: Mercurial diuresis in edematous individuals. Circulation (New York) **5**, 85 (1952). — Mateer, F. M., L. H. Erhard, M. Price, F. A. Weigand, J. H. Peters, T. S. Danowski, R. Tarail and L. Greenman: Sodium restriction and cation exchange resin therapy in nephrotic children. J. Clin. Invest. **30**, 1018 (1951). — Ulich, K., u. M. Wolf: Über den Kochsalz- und Natriumgehalt der „salzfreien" Krankenkost. Dtsch. med. Wschr. **1954**, 108. — Wood, J. E., D. H. Ferguson and P. Lowrance: Cation exchange resins as an adjunct in treatment of heart failure. J. Amer. Med. Assoc. 8, 820 (1952).

Dr. Wolfgang Koransky, Pharmakologisches Institut der Freien Universität, Berlin-Dahlem, Thielallee 69/73.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 224, S. 243—247 (1955).

Aus dem Pharmakologischen Laboratorium der Medizinischen Fakultät Porto
(Direktor: Prof. Dr. A. Malafaya-Baptista).

Einfluß von Luminal und Pentothal auf die Inaktivierung von l-Adrenalin und l-Noradrenalin durch Aminooxydase.

Von
A. Malafaya-Baptista, J. A. Guimarãis, J. Garrett und W. Osswald.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 19. September 1954.)

Über die physiologische Bedeutung von Aminooxydase und insbesondere über die Rolle, die diesem Enzym in der Inaktivierung der sympathischen Neurohormone im Organismus zukommt, herrscht keine Einstimmigkeit. Es wird jedoch allgemein angenommen, daß die fermentative Oxydation von Adrenalin und Noradrenalin durch Aminooxydase wenigstens einen der möglicherweise in Betracht kommenden Mechanismen der physiologischen Inaktivierung dieser sympathomimetischen Amine darstellt (Zusammenfassung in Martin, 1951; Blaschko, 1952).

Im Verlauf eigener Untersuchungen über den Einfluß einiger Barbitursäure-Derivate auf verschiedene Strukturen des vegetativen Nervensystems sind wir auf Ergebnisse gestoßen, die im Sinne eines Einflusses von Luminal und Pentothal auf die Inaktivierung der sympathischen Überträgersubstanzen gedeutet werden könnten. Versuche in dieser Richtung würden auch zur Klärung älterer Befunde von Brown u. McSwiney über die Beeinflussung der Effekte der Sympathicusreizung auf die Magenmotorik durch Luminal beitragen — eine Frage, die uns auch beschäftigte (Malafaya-Baptista u. Mitarb., unveröffentlichte Ergebnisse). In den oben genannten zusammenfassenden Veröffentlichungen finden sich unter den vielen Verbindungen, die einen hemmenden Effekt auf die Aminooxydaseaktivität ausüben können, keine Barbitursäure-Derivate aufgezeichnet, und auch in den letzten Jahren wurden diese Pharmaka in dieser Richtung hin nicht untersucht (Blaschko, 1954). Ziel der vorliegenden Untersuchung ist die Frage einer etwaigen Beeinflussung der Aminooxydase-Inaktivierung von Adrenalin und Noradrenalin in vitro durch Luminal und Pentothal.

Methodik.

Als Fermentquelle benutzten wir ausschließlich Meerschweinchenleber, die einen hohen Aminooxydasegehalt besitzt (Alles u. Heegaard, 1943). Als stabiles und einheitlich wirksames Präparat gebrauchten wir das Acetontrockenpulver, das

nach Blaschko (1954) durch Behandlung der frischen Leber mit gekühltem Aceton hergestellt wurde. Wie wir uns überzeugen konnten, war die Wirksamkeit dieses Präparates größer als die eines Acetontrockenpulvers aus Kaninchenleber, das uns von Blaschko zum Vergleich zur Verfügung gestellt worden war. Als Substrate kamen Suprarenin Hoechst sowie 1-Arterenol Hoechst und Levophed Winthrop-Stearnes in Konzentrationen von 10 oder 20 μg/cm^3 der Hydrochloride zur Verwendung. Tyndallisiertes menschliches Blutserum wurde in adäquaten Mengen den Mischungen zugesetzt, um eine Spontaninaktivierung der sympathomimetischen Amine zu verhüten. Alle Mischungen wurden mit M/15 Phosphatlösungen gepuffert; das p_H wurde auf 7,38—7,73 oder sogar 8,04 eingestellt, je nach den Löslichkeitsbedingungen der untersuchten Natrium-„Salze" der Barbiturate. Diese „Salze" (Phenobarbital-Natrium = Luminal-Natrium[1] Merck und Thiopental-Natrium = Pentothal-Natrium[2] Abbott) wurden in Konzentrationen von 0,05 bis 10 mg/cm^3 (in der Regel 0,05—0,5 und 5 mg/cm^3) verwendet; das Aminooxydase-Präparat wurde den Mischungen in den zur Erreichung einer Endkonzentration von 0,025—0,050 g/cm^3 erforderlichen Mengen zugesetzt. Die Bebrütungszeit der Mischungen schwankte zwischen 1 und 4 Std bei konstant gehaltener Temperatur von 37° C. Dabei wurden die Adrenalin oder Noradrenalin enthaltenden Mischungen unter denselben Bedingungen bebrütet, da kein wesentlicher Unterschied zwischen der Geschwindigkeit der enzymatischen Oxydation beider Amine besteht (Blaschko, Richter u. Schlossmann, 1936, Blaschko u. Burn, 1951, Burn u. Robinson, 1948). Eine Mischung ohne Substrat wurde immer bereitet, um etwaige Eigenwirkungen des Enzympräparates auf das von uns gewählte Testobjekt auszuschließen. Nach Beendigung der Bebrütung wurde das Aminooxydase-Präparat rasch durch Zentrifugieren abgetrennt und die in der klaren Flüssigkeit enthaltenen Mengen pressorischer Amine am Blutdruck des Spinalhundes ausgetestet. Das Versuchstier, mit Atropin (0,2 mg/kg) vorbehandelt, wurde in Äthernarkose beiderseitig vagotomiert, die Carotiden abgeklemmt und eine V. femoralis für die Einspritzungen kanüliert. Danach wurde die Äthernarkose aufgehoben, das Tier künstlich beatmet und das Zentralnervensystem bis zum oberen dorsalen Rückenmark zerstört (Technik nach Jackson). Nach einer Ruhepause von wenigstens 60 min wurde der Carotisdruck mit Quecksilbermanometer registriert und die Mischungen ausgetestet; Heparin oder Chlorazol[3] wurden als Anti-Koagulantien in die Franckschen Carotiskanüle eingespritzt. Die 14 Hunde, die zu dieser Arbeit verwendet wurden, wogen zwischen 5 und 11 kg.

Um eine Schätzung der inaktivierten Mengen von Adrenalin und Noradrenalin zu ermöglichen, und gleichfalls die Empfindlichkeit des Testobjektes zu prüfen, wurden zu Beginn und am Ende des Experimentes 5 in geometrischer Reihe abgestufte Adrenalingaben eingespritzt; die größte Gabe entsprach der anfänglich in 1 cm^3 der Mischungen enthaltenen Menge Adrenalin.

Als Stammlösung diente eine frisch zubereitete Adrenalinlösung in N/100 HCl, die im Moment des Versuches entsprechend verdünnt und gepuffert wurde. Bewertet wurden nur die Versuche, in denen bei Wiederholung der gleichgroßen Gabe Adrenalin annähernd gleiche Blutdrucksteigerungen erfolgten.

Nach Versuchsende wurde systematisch der p_H der Mischungen elektrometrisch festgestellt.

[1] Natrium-Phenyl-äthyl-barbitursäure.

[2] Natrium-Äthyl-1-methyl-butyl-thiobarbitursäure.

[3] Komplexe Azo-Verbindung von p,p′-Diamino-diphenylharnstoff-disulphonsäure mit 2-Amino-8-naphtol-6-sulphonsäure.

Ergebnisse und Besprechung.

Die beiden untersuchten Barbitursäure-Derivate haben eine verschiedene Wirkung auf die Aminooxydase-Inaktivierung von Adrenalin und Noradrenalin. Luminal bewirkt regelmäßig, in den höchsten von uns gebrauchten Konzentrationen (5 und 10 mg/cm³) eine Verstärkung der Adrenalin-Inaktivierung durch das Meerschweinchen - Leberpräparat (vgl. Abb. 1). Niedrigere Mengen Luminal führen zu Blutdrucksteigerungen, die sich nicht von der Wirkung der Vergleichsmischung ohne Luminal unterscheiden. Alle untersuchten Luminalkonzentrationen erwiesen sich jedoch als völlig unwirksam auf die Inaktivierung von Noradrenalin durch Aminooxydase.

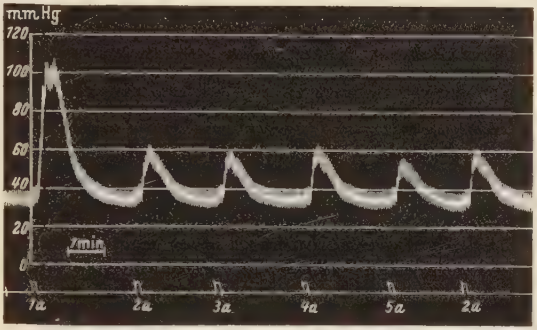


Abb. 1. Spinalhund, ♂, 5,4 kg. Blutdruckwirkungen der Mischungen *1a* (Adrenalin + Serum + Puffer), *2a* (Adrenalin + Serum + Aminooxydase + Puffer), *3a*, *4a* und *5a* (Adrenalin + Serum + Aminooxydase + wachsende Konzentrationen von Luminal-Natrium — 0,05 — 0,5 und 5 mg/cm³ + Puffer).

Für Pentothal konnte dagegen mit Sicherheit ein deutlicher Hemmeffekt der enzymatischen Oxydation von Adrenalin *und* Noradrenalin

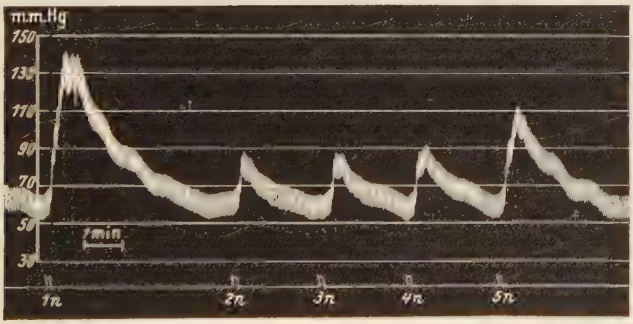


Abb. 2. Spinalhund, ♂, 11 kg. Blutdruckwirkungen der Mischungen *1n* (Nor-Adrenalin + Serum + Puffer), *2n* (Noradrenalin + Serum + Aminooxydase + Puffer), *3n*, *4n* und *5n* (Noradrenalin + Serum + Aminooxydase + wachsende Konzentrationen von Pentothal-Natrium — 0,05 — 0,5 und 5 mg/cm³ + Puffer).

festgestellt werden. Doch war er gegenüber Adrenalin ausgeprägter. In jedem Falle war es mit 5 mg Pentothal-Natrium/cm³ zu erreichen (Abb. 2). Aber auch niedrigere Konzentrationen des Thiobarbiturates (0,5 und sogar 0,05 mg/cm³) bewirkten einen deutlichen Hemmeffekt in

solchen Versuchen, in denen günstigere Bedingungen für ein Eingreifen im fermentativen Prozeß geschaffen wurden (kürzere Bebrütungszeit, Verwendung von kleineren Mengen des Aminooxydase-Präparates). Im Versuch der Abb. 3 wurde das Meerschweinchen-Leberpräparat in einer Endkonzentration von 0,025 g/cm³ verwendet und die Bebrütungszeit betrug nur 60 min.

Unsere Versuchsergebnisse stellen einen neuen Beitrag dar für das verschiedentlich beobachtete andersartige Verhalten von Barbitur- und Thiobarbitursäure-Derivaten gegenüber vegetativen Strukturen (Gruber, Gruber u. Colosi, 1938; J. A. Guimarãis u. Mitarb., 1954).

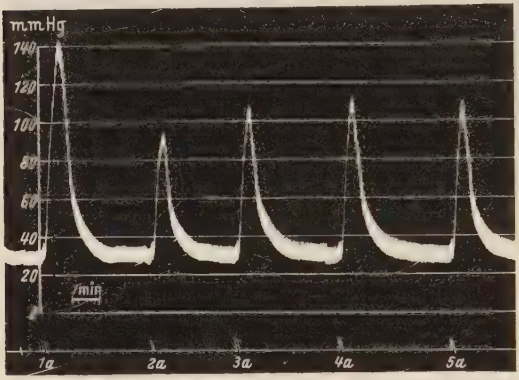


Abb. 3. Spinalhund, ♀, 5,3 kg. Blutdruckwirkungen der Mischungen *1a* (Adrenalin + Serum + Puffer), *2a* (Adrenalin + Serum + Aminooxydase + Puffer), *3a*, *4a* und *5a* (Adrenalin + Serum + Aminooxydase + wachsende Konzentrationen von Pentothal-Natrium — 0,05 — 0,5 und 5 mg/cm³ + Puffer).

Luminal begünstigt den oxydativen Abbau von Adrenalin durch das Aminooxydase-Präparat der Meerschweinchenleber, während Pentothal ganz entgegengesetzt wirkt. Dieser Hemmeffekt der Aminooxydase-Aktivität dürfte mit der chemischen Konstitution des Pentothals als Thioharnstoffderivat in kausalem Zusammenhang stehen, da auch die Derivate des *iso*-Thioharnstoffes einen deutlichen hemmenden Einfluß auf die Aminooxydase zeigen (Blaschko u. Duthie, 1945; Fastier u. Hawkins, 1951).

Genaue Angaben über Beeinflussung der Aminooxydase-Wirksamkeit durch den p_H-Wert des Milieus sind in der Literatur nicht enthalten; jedoch muß mit dieser Möglichkeit gerechnet werden. Ein p_H von 7,0—7,4 scheint eine optimale Bedingung für den enzymatischen Abbau verschiedener Amine darzustellen; die manometrischen Untersuchungen mit Aminooxydase werden im allgemeinen unter diesen p_H-Bedingungen vorgenommen. Dieser p_H-Bereich konnte in unseren Versuchen nicht immer eingehalten werden, da die stark basischen Natrium-„Salze" der Barbiturate nur in alkalischen Phosphatpuffern (7,73 oder sogar 8,04) in Lösung zu halten sind. Trotz Pufferung erreichten die barbiturathaltigen Mischungen stets höhere p_H-Werte als die Vergleichsmischungen, und es muß also eine mögliche Beeinflussung der enzymatischen Inaktivierung von Adrenalin und Noradrenalin durch ungünstige p_H-Bedingungen in Erwägung gezogen werden. Jedoch liefert das verschiedenartige, ja sogar entgegengesetzte Verhalten von Luminal und Pentothal einen Hinweis, der es uns ermöglicht, für den p_H-Bereich von 7,4—8,2 keinen nennenswerten Einfluß des p_H auf die Aktivität der Aminooxydase als wahrscheinlich anzusehen. Mit dieser Ansicht stimmt eine Beobachtung von

Blaschko (1953) gut überein, der nach 60 min keinen großen Unterschied zwischen der Aminooxydase-Aktivität der bei p_H 7,4 oder bei p_H 8,2 bebrüteten Rattenleber feststellte.

Zusammenfassung.

1. Luminal-Natrium (5 und 10 mg/cm³) beschleunigt den fermentativen Abbau von Adrenalin durch die Aminooxydase der Meerschweinchenleber.

2. Die Inaktivierung von Adrenalin und Noradrenalin durch dieses Aminooxydase-Präparat wird durch Pentothal-Natrium (0,05 bis 5 mg/cm³) deutlich gehemmt.

Dr. H. Blaschko, Oxford, sind wir für Überlassung eines Aminooxydase-Präparates und für persönliche Mitteilungen dankbar; unser Dank gebührt gleichfalls Dr. M. L. Tainter, Rensselaer und den Farbwerken Hoechst für freundliche Überlassung von Versuchsmengen von Adrenalin und Noradrenalin.

Literatur.

Alles, G. A., and E. V. Heegaard: J. of Biol. Chem. **147**, 487 (1943). — Blaschko, H.: Pharmacol. Rev. **4**, 415 (1952). — J. of Physiol. **122**, 419 (1953). — Persönliche Mitteilung, 1954. — Blaschko, H., and J. H. Burn: J. of Physiol. **112**, 37P (1951). — Blaschko, H., and R. Duthie: Biochemic. J. **39**, 347 (1945). — Blaschko, H., D. Richter and H. Schlossmann: Biochemic. J. **31**, 2187 (1937). — Brown, G. L., and B. A. McSwiney: J. of Physiol. **74**, 179 (1932). — Burn, J. H., and J. Robinson: Brit. J. Pharmacol. **6**, 101 (1951). — Fastier, F. N., and J. Hawkins: Brit. J. Pharmacol. **6**, 256 (1951). — Gruber, C. M., C. M. Gruber jr. and N. A. Colosi: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **63**, 215 (1938). — Guimarãis, J. A., A. Malafaya-Baptista, J. Garrett und W. Osswald: Arch. internat. Pharmacodynamie (in Veröffentlichung). — Jackson, D. E.: Experimental Pharmacology and Materia Medica. London: Henry Kimpton 1939. — Martin, G. J.: Biological Antagonism. Philadelphia: The Blakiston Company 1951.

Prof. Dr. A. Malafaya-Baptista,
Laboratório de Farmacologia da Faculdade de Medicina do Porto, Portugal.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 224, S. 248—252 (1955).

From the Department of Physiology, College of Science and Technology and the Department of Pharmacology, School of Tropical Medicine; Calcutta, India.

The effect of chlorpromazine on the electrical activity of the "cerveau isolé".

By

N. N. Das, S. R. Dasgupta and G. Werner.

With 2 figures in the text.

(Eingegangen am 24. September 1954.)

The phenothiazine derivative chlorpromazine (chloro-3, dimethyl-amino-3′-propyl-10 phenothiazine; 4560 RP*) was recently the object of a considerable number of pharmacological and clinical investigations, the reason being that it exerts an exceedingly interesting and apparently unique pattern of actions on the central nervous system:

Changes of behavior and electroencephalogram in rhesus monkeys[6], specific supression of "sham rage"[7] and direct electrical excitability of hypothalamic and medullary pressor areas in diencephalic cats[8], a blocking action on interneurons of spinal cord and brain stem reticular formation[9], a central antiemetic activity[1] and finally interference with conditioned reflexes[5, 10] were discovered so far during the progress of analysis of the central actions of this drug; a blocking effect on the generalised cortical response to external stimuli and a suppressive action on nicotine-seizures in the "encephale isolé" preparation of rabbits were also described[14].

In order to obtain additional information regarding its action on higher centres of the nervous system, the experiments reported here were carried out, using the preparation described by Bremer[2] as "cerveau isolé".

Method.

A mesencephalic transection of the brain stem at the collicular level was carried out in cats under ether anaesthesia, care being taken not to interfere with the blood supply through the basilary artery; the actual transection was made through suction by means of a fine capillary after applying bilateral trephine holes in the occipital region. Anaesthesia was discontinued after the operation and the animal was allowed to rest for one hour. Electrodes were then applied to the surface of the cortex (one pair each to the surface of the frontal and occipital lobes); uni —and bipolar records of the cortical potentials were simultaneously obtained through a Grass 8-channel electroencephalographic machine with ink writer (ear lobes as ground connections).

Results.

Nine of the twelve operated animals presented in the electroencephalographic record the picture described by Bremer[2] as characteristic for this preparation: short bursts of spindles (10—15 per second),

* Largactil, Megaphen.

separated by intervals of several seconds during which slow waves of higher voltage were recorded (fig. 1a).

A very marked change of the electro-corticogram took place in all animals after the intravenous injection of chlorpromazine (0,2—0,5 mg/kg):

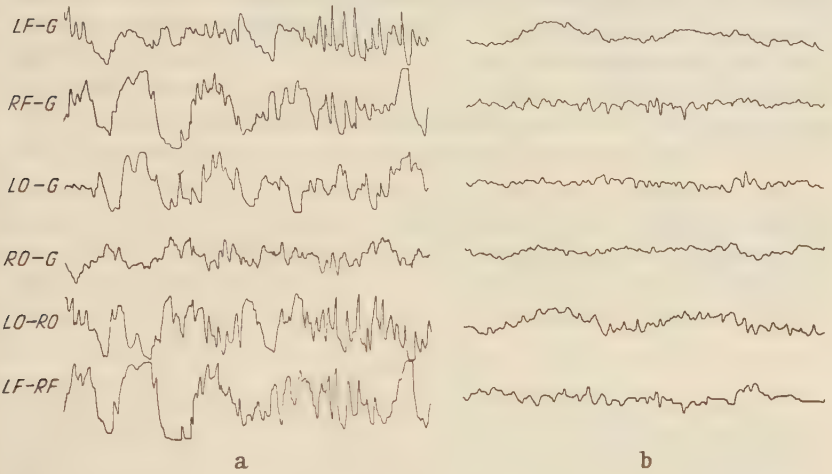


Fig. 1. Experiment of 23. 8. 54, cat 3,5 kg; mesencephalic transection, uni- and bipolar electrocorticogram. *a*: before drug administration; *b*: 6 min after intravenous injection of 0,5 mg/kg chlorpromazine (calibration and abreviations as in fig. 2).

the slow waves of high voltage disappeared within a few seconds after the drug administration, leaving only a waxing and waning spindle activity appear in the records; in the course of another 5 min a gradual decline of the spindel activity took place regularly and only low voltage waves (5—7 per sec) remained finally (fig. 1b). In three experiments, however, a different response was obtained (fig. 2): within 30—60 sec after the injection a "spike and wave" pattern with an average fre-quency of 3 per second developed, appearing bilaterally and synchronous from homologous areas, chiefly frontal; it persisted with intermissions of several seconds duration during observation periods of 10 to 30 min after which time a slow low voltage activity prevailed. The spikes and waves were similar to the

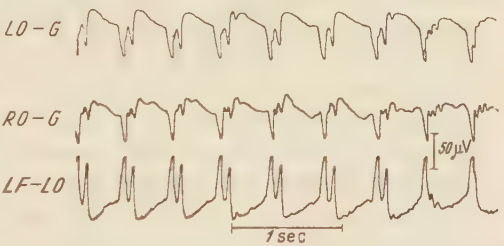


Fig. 2. Experiment of 23. 7. 54; cat 2,9 kg; mesencephalic transection, uni- and bipolar electrocorticogram, recorded 2 min after intravenous injection of 0,5 mg/kg chlorpromazine. *LO—G*: left occipital lobe-ground, *RO—G*: right occipital lobe-ground, *LF—LO*: left frontal — left occipital lobe.

electroencephalographic characteristics of petit-mal epilepsy. In two instances, the amplitude of the spikes and waves were seen to wax and wane spontaneously and presented then a similar picture as obtained by Jasper[12] with continued repetitive low intensity stimulation of the nucleus paracentralis (lateral intralaminar region) of the thalamus. This pattern persisted from 5—25 min in the different experiments and was then also followed by slow low voltage waves. The series of "spike and wave" complexes could in these instances only be once elicited and reinjection of a second dose of chlorpromazine after establishment of the slow low voltage pattern did not lead to any obvious response any more.

On two additional animals the transection at the collicular level was carried out only to such an extent that the basis pedunculi (containing the pyramidal tracts) were left intact ("pyramidal cat"[18]): both animals developed powerful convulsions after the intravenous injection of chlorpromazine (0,2—0,5 mg/kg).

Discussion.

The synchronised electrical activity of the brain specimen obtained after mesencephalic transection (i. e. "cerveau isolé") is obviously based on thalamocortical interaction after release from the influx of ascending impulses[4]: The blocking effect of chlorpromazine on slow waves and spindle bursts of the "cerveau isolé" can therefore be interpreted as evidence for an interference with the spontaneous activity of the thalamocortical complex.

It appears that the effects of chlorpromazine on the electroencephalogram of the intact brain and of the "encephale isolé" preparation is caused by a disturbance of the awakening activity of the ascending reticular formation (Magoun)[6, 14]; however in brain specimens which are disconnected from this formation ("cerveau isolé") as used in the present investigation, signs of a disruption of the thalamo-cortical interaction (in form of profound alterations of the resting EEG pattern of this preparation) prevail in the EEG records. The dose of chlorpromazine required to produce such effects is comparatively small (not exceeding 0,5 mg/kg); barbiturates, on the other hand, interfere with the thalamocortical activity of the "cerveau isolé" only to a minor degree in comparatively high doses[3].

It is now generally accepted that bilateral occurrence of spike and wave discharges, characteristic for petit-mal epilepsy, originate from diencephalic structures[17]; more specifically, spike and wave discharges appearing (as in the experiments described here) bilaterally synchronous over homologous areas (predominantly frontal) could be elicited by repetitive electrical stimulation of foci within the anterior intralaminar region of the thalamus[13]. The system involved in this response is usually

referred to as "thalamic reticular system"[12]. It is striking to note that activation of this system through electrical stimulation on the one, and administration of chlorpromazine (in some instances) on the other hand, produce so closely similar results, both in respect to electroencephalographic changes and convulsions, though in the latter case the effects could be demonstrated only in suitable preparation i. e., "cervau isolé" and "pyramidal cats" respectively. Convulsions are, however, with chlorpromazine in intact animals never observed: this can be explained with the blocking activity of chlorpromazine on the reticular formation and an spinal interneurons described previously[9].

In intact animals quite different EEG changes were usually observed after administration of chlorpromazine, namely high voltage delta waves; spike and wave discharges were in a previous series of experiments on rhesus monkeys with intact nervous system noted only in one out of six animals[6]. Besides, an anticonvulsive action with nicotine as seizure eliciting agent and interferences with the "blocking reaction" was noted in "encephale isolé" preparations of rabbits[14]. Destruction of the anterior end of the activating system in the basal diencephalon was, however, found to free the thalamic reticular system also from some inhibitory influences[13]; such a condition prevails apparently in the brain specimen obtained after mesencephalic transection (as used in these experiments), which then offers a suitable functional background for the demonstration of the effect of the drug. These findings give experimental evidence as to occurrence and mechanism of such occasionally noted clinical observations with chlorpromazine as: possible increase (rather than decrease) in the amount of antiepileptic agents needed to control idiopathic epilepsy and increase in convulsion rate in post-leucotomy cases[11].

On the basis of the evidence obtained in this and in other series of experiments[6, 14] the speculation becomes tempting, that the high level central action of chlorpromazine consists in interference with the controlling activity of regulatory systems (involving the thalamic reticular system and the activating lower brain stem reticular formation[16]) on the cortical background activity upon which afferent impulses must act, thereby modifying the state of awareness and wakefulness.

Zusammenfassung.

Chlorpromazin (Largactil; Megaphen) verursachte in Dosen von 0,2—0,5 mg/kg (intravenös) ausgeprägte Veränderungen des Elektrocorticogramms des thalamo-corticalen Systems (cerveau isolé — Präparation von Bremer). Die für diese Präparation charakteristischen Spindeln (12—15 per sec) und langsamen Wellen (2—3 per sec) verschwanden innerhalb weniger Minuten nach der Injektion; in einigen Experimenten

wurden vorübergehend "spikes and waves" im Anschluß an die intravenöse Injektion von Chlorpromazin beobachtet.

Die Beobachtungen werden dahingehend interpretiert, daß Chlorpromazin die Spontanaktivität des thalamocorticalen Systems beeinflußt; diese Wirkung zusammen mit der früher beschriebenen blockierenden Wirkung auf die formatio reticularis des Hirnstammes vermag zu erklären, auf welche Weise Chlorpromazin den Zustand des Wachseins beeinflußt und dabei Veränderungen des Verhaltens verursacht.

References.

[1] Borison, H. L., and S. C. Wang: J. of Pharmacol. **100**, 86 (1954). — [2] Bremer, F.: C. r. Soc. Biol. Paris **118**, 1234, 1241 (1935). — [3] Bremer, F.: C. r. Soc. Biol. Paris **118**, 1241 (1935). — [4] Bremer, F.: Some problems in neurophysiology. The Athlone press, 1953. — [5] Courvoisier, S., J. Fournel, R. Ducrot, M. Kolsky, and P. Koechschet: Arch. internat. Pharmacodynamie **92**, 305 (1954). — [6] Das, N. N., S. R. Dasgupta and G. Werner: Arch. internat. Pharmacodynamie **99**, 451 (1954). — [7] Dasgupta, S. R., K. L. Mukherjee and G. Werner: Arch. internat. Pharmacodynamie **97**, 149 (1954). — [8] Dasgupta, S. R., and G. Werner: Brit. J. Pharmacol. **9**, 389 (1954). — [9] Dasgupta, S. R., and G. Werner: Arch. internat. Pharmacodynamie (in press). — [10] Guha, G., S. R. Dasgupta and G. Werner: Bull. Calc. School Trop. Med. **2**, No. 2 (1954). — [11] Harper, J.: Personal communication to the authors. — [12] Jasper, H. H.: Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol. **1**, 405 (1949). — [13] Jasper, M. M., and J. Drooglever-Fortuyn: Res. Publ. Ass. Nerv. Ment. Dis., N.Y. **26**, 272 (1947). — [14] Longo, V. G., G. P. v. Berger and D. Bovet: J. of Pharmacol. **111**, 349 (1954). — [15] Magoun, H. W.: Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol. **1**, 419 (1949). — [16] Magoun, H. W.: The Harvey Lectures, Ser. 47, p. 53, 1951/52. — [17] Penfield, W., and H. H. Jasper: Res. Publ. Ass. Nerv. Ment. Dis., N.Y. **26**, 252 (1947). — [18] Whitlock, D. G., A. Arduini and G. Moruzzi: J. of Neurophysiol. **16**, 414 (1953).

Dr. G. Werner, Wien/Österreich, Pharmakologisches Institut der Universität.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 224, S. 253—261 (1955).

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Göttingen (Direktor: Prof. Dr. R. Schoen).

Über Wasser- und Elektrolytverschiebungen in Organen nach Infusionen von K- und Na-Salzen.

Von

K. Kühns und K. Th. Ehlers.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 7. Oktober 1954.)

Entsprechend der zunehmenden Bedeutung, die sekundären Störungen des Wasser- und Elektrolythaushaltes beigemessen wird, hat sich auch die Substitutionstherapie mit Flüssigkeit und Mineralsalzen ausgeweitet.

Natriumsalz-Infusionen werden z. B. bei Magen-Darmerkrankungen mit Exsiccose, bei Nebennieren-Exstirpationen und zur Behebung von Addison-Krisen durchgeführt. Eine Substitution mit Kaliumsalzen gehört in der Behandlung des Koma diabeticum, bei der Bekämpfung des postoperativen Schocks und der hypokaliämischen Muskellähmung wie auch bei Pylorusstenosen, Gallenfisteln und DOCA-(Cortison-) Überdosierungen zu den oft lebensrettenden therapeutischen Notwendigkeiten.

Obwohl es sich bei den genannten Alkalien um körpereigene Stoffe handelt, kann eine überdosierte oder ohne Kenntnis ihrer Auswirkungen verabfolgte Na- oder K-Infusion unerwünschte und nicht selten bedrohliche Folgen haben. Neben der Niere ist besonders das Herz gefährdet, welches nur im optimalen Ionen-Milieu leistungsfähig bleibt [5, 15, 16, 17]. Auf deletäre Herzkomplikationen nach Kochsalz- und DOCA-Zufuhr bei Morbus Addison und unter Natrium-PAS-Dauerinfusionen bei der Meningitis-tbc konnten wir kürzlich hinweisen[7]. Die Gefahren der intravenösen Kalium-Zufuhr, die bei geringen Überdosierungen Reizleitungsstörungen und Herzstillstand auslösen kann, sind allgemein bekannt.

Mit der vorliegenden Arbeit war beabsichtigt, nähere Einblicke in die Wasser- und Elektrolytverschiebungen im Organismus zu gewinnen, die nach K- und Na-Infusionen eintreten. Ganz besondere Aufmerksamkeit galt dabei den Konzentrationsveränderungen von Kalium und Natrium im Herzmuskel, nachdem festgestellt ist[7, 8, 10], daß Störungen des kardialen Konzentrationsgefälles dieser Elektrolyte das Auftreten von Herzirregularitäten und pathologischen EKG-Veränderungen verursachen können.

Versuchsanordnung und Methodik.

1. K-Infusion (Versuchsgruppe B). Bei 5 Hunden wurde in Somnifen-Narkose eine im Verhältnis 1 : 4 verteilte Mischung von 2,3% KH_2PO_4 und 2,1% K_2HPO_4 infundiert. Die Lösung war isoton und hatte ein p_H von 7,2. Die Infusionsgeschwindig-

keit wurde variiert. Die K-Zufuhr pro Gewicht und Zeiteinheit betrug auf diese Weise für:

Hund e = 0,057 mäq K/kg/min
Hund o = 0,069 mäq K/kg/min
Hund b = 0,093 mäq K/kg/min
Hund a = 0,123 mäq K/kg/min
Hund d = 0,216 mäq K/kg/min.

Vor und in Abständen von 10—15 min nach Infusionsbeginn erfolgten gleichzeitig die Registrierung eines Elektrokardiophonogramms und eine Blutentnahme zur Bestimmung von Hämatokrit, K, Na und Cl im Serum. Unmittelbar vor der Tötung fand die letzte Untersuchung statt, an die sich sofort die Aufarbeitung von Herz- und Skeletmuskulatur, Leber und Niere zur Analyse der Elektrolytkonzentrationen anschloß. Die Tötung der Hunde erfolgte unmittelbar vor dem Spontantod des an Kalium-Vergiftung sterbenden Hundes. Der Zeitpunkt lag je nach Infusionsgeschwindigkeit bei 105, 90, 75, 30 und 15 min nach Infusionsbeginn.

Als normale Kontrolltiere (Gruppe A) dienten 6 Hunde, bei denen der Gesamt-Elektrolyt- und Wassergehalt von Herz (re. und li. Kammer), Leber, Skeletmuskel (M. vastus) und Nieren bestimmt wurde. Bei 3 Normaltieren erfolgte außerdem die Bestimmung der extra- und intracellulären Elektrolytverteilung in den Herzkammern und in der Skeletmuskulatur.

2. Na-Infusion (Versuchsgruppe C). Bei 4 Hunden wurde in Somnifen-Narkose eine auf ein p_H von 7,1—7,2 eingestellte Lösung von primärem und sekundärem Na-Phosphat im Verhältnis 1 : 4 infundiert. Bei 2 Hunden (A und C) war die Lösung isoton (2,02% NaH_2PO_4 und 1,79% Na_2HPO_4), bei den Hunden D und E kam eine 5%ige Na-Phosphat-Lösung im gleichen Mischungsverhältnis zur Anwendung. Um bereits vor der Na-Infusion nach Möglichkeit einen latenten K-Mangel zu erzielen, erhielten die Hunde 8 –14 Tage vor dem Versuch eine kaliumarme Reisdiät und täglich 10 mg DOCA (Desoxycorticosteron-acetat) injiziert. (Bei einem Kontrolltier, das nach 8 Tagen Reisdiät und DOCA ohne Infusion getötet wurde, konnte auf diese Weise ein Abfall des Serum-K von 5,6 auf 4,4 mäq/l erreicht werden. Die intracelluläre K-Konzentration in der re. bzw. li. Herzkammer war mit 108 bzw. 100 mäq/l nach DOCA ausgesprochen niedrig.) Die Infusionsgeschwindigkeit variierte bei den einzelnen Hunden, die 15, 35, 50 und 60 min nach Infusionsbeginn getötet wurden. Aus dieser Versuchsanordnung ergaben sich für die 4 Hunde folgende Na-Zufuhren pro Gewicht und Zeiteinteilung:

Hund C = 0,184 mäq Na/kg/min
Hund D = 0,210 mäq Na/kg/min
Hund A = 0,286 mäq Na/kg/min
Hund E = 0,325 mäq Na/kg/min

Die Registrierung der Elektrokardiophonogramme, die Blutentnahmen und die Elektrolyt-Analysen erfolgten in gleicher Weise wie bei den K-Infusionen.

3. Die *Elektrolyt-Analysen* in Serum und Organen sowie die Berechnung der intra- und extracellulären Wasserverteilung und Elektrolytkonzentrationen wurde nach einer von Kühns[6, 9] angegebenen Methode ausgeführt. Die Bestimmungen von K und Na erfolgten flammenphotometrisch. Zur Berechnung des extracellulären Raumes in Herz- und Skeletmuskulatur diente der Chlorid-Verteilungsraum. Die Chloridbestimmungen im Serum wurden nach Volhard[12] und Ruczniak[12], im Gewebe nach Sundermann und Williams[14] durchgeführt.

Die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse erfolgte nach dem t-Test.

Ergebnisse.

Sämtliche Einzeldaten und die statistischen Berechnungen sind bei Ehlers[4] aufgeführt worden, so daß wir uns hier auf die Wiedergabe der Mittelwerte (M) und der Streuung der Mittelwerte (σ M) beschränken können.

1. K-Infusion. Der bei allen 5 Hunden beobachtete K-Anstieg im Serum ist von der Infusionsgeschwindigkeit bzw. der pro Zeiteinheit

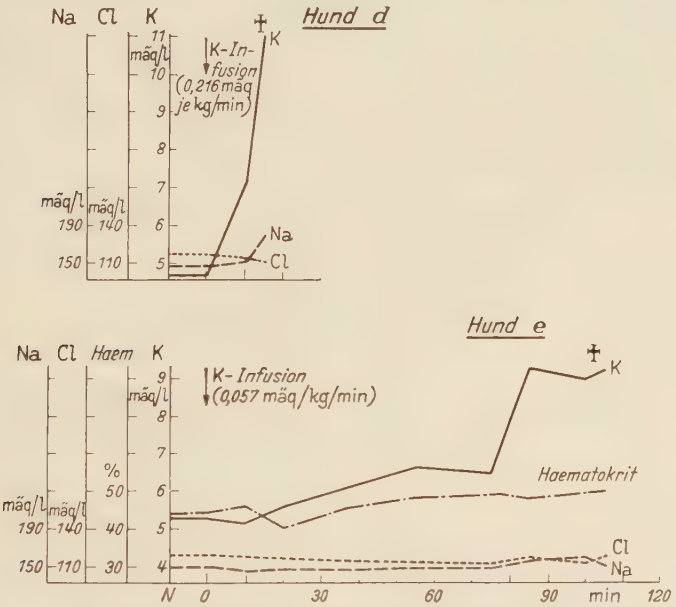


Abb. 1. Verhalten der Serum-Elektrolyte bei K-Infusion.

zugeführten K-Menge abhängig, wie die Abb. 1 zeigt. Entsprechend wird auch die bis zum Herztod erforderliche Infusionsdauer von der K-Dosis pro Körpergewicht und Zeiteinheit bestimmt. In Abb. 2 sind die bei den 5 Hunden ermittelten Letaldosen als Kurve eingezeichnet.

Der Hämatokritwert fällt unter der K-Phosphatinfusion zunächst ab, um dann wieder leicht anzusteigen. Das Serum-Na und das Serum-Chlorid werden nicht signifikant verändert.

Die Wasser- und Elektrolytverschiebungen in den *Organen* sind folgende (siehe Tab. 1 und 2): Im *Herzmuskel* kommt es zu einer signifikanten Zunahme des Wassers und des Gesamt-K-Gehaltes (Tab. 1). Dabei ist besonders die Wasserverschiebung in den intracellulären Raum, die beide Herzkammern betrifft, hervorstechend (Tab. 2). Die intracelluläre K-Konzentration nimmt nur im rechten Herzen signifikant

zu, während die extracelluläre K-Konzentration in beiden Ventrikeln erheblich ansteigt. Die Folge ist eine bedeutende Abnahme des kardialen K-Konzentrationsquotienten (im Mittel von 28,1 auf 15,6 im rechten Herzen und von 28,8 auf 14,9 im linken Herzen). Die Abnahme ist hoch signifikant. Die intracelluläre Na-Konzentration ist im rechten Herzen leicht erhöht, was zu einer Abnahme des Na-Quotienten führt.

In der *Skeletmuskulatur* sind die Wasser- und Elektrolytverschiebungen denen im Herzmuskel im Prinzip ähnlich. Die geringe Wasserzunahme

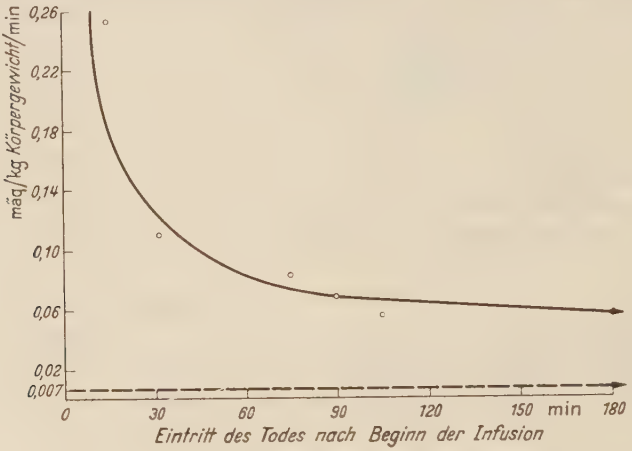


Abb. 2. Letaldosis (mäq/kg/min) bei Kalium-Infusion.

ist hier auf den extracellulären Raum beschränkt, der Anstieg der extracellulären K-Konzentration führt auch im Skeletmuskel zu einer Abnahme des K-Diffusionsgefälles. Wie im Herzmuskel nimmt die intracelluläre Na-Konzentration zu, der Na-Quotient wird kleiner. In der *Leber* steigt der Wassergehalt an, während sich Veränderungen des K- und Na-Gehaltes nicht sichern lassen. Die *Nieren* lassen eine etwa 20%ige Zunahme ihres Wassergehaltes erkennen, die rund 10%ige Zunahme des Na-Gehaltes bleibt hinter dieser Wasserverschiebung zurück, so daß eine leichte Konzentrationsabnahme dieses Elektrolytes angenommen werden kann. Statistisch sichern lassen sich die Na-Veränderungen jedoch nicht.

EKG-Veränderungen siehe [8].

2. Na-Infusion. Nach der Vorbehandlung der Hunde mit DOCA und K-armer Diät ließ sich nur in 2 Fällen eine leichte Abnahme des Serum-K auf niedrig normale Werte erzielen, das Serum-Na nahm im Mittel leicht zu. Im EKG zeigten sich keine Veränderungen. Bei dem nur mit DOCA ohne anschließende Na-Infusion behandelten Kontrolltier nahmen Wasser- und Natriumgehalt des Herzmuskels leicht zu, während der

Kaliumgehalt niedrig normal lag. (Die Veränderungen des Wasser- und Elektrolytgehaltes in der Skeletmuskulatur, in Leber und Nieren hielten sich bei dem Kontrolltier in der normalen Streubreite.)

Tabelle 1. *Gesamtwerte für H_2O, K und Na in Organen bei K- und Na-Infusionen.* (Mittelwerte M und σ M)*

	Zahl der Tiere	Rechter Herzmuskel			Linker Herzmuskel		
		H_2O (g/kg)	K (mäq/kg	Na Tro, subst.)	H_2O (g/kg	K (mäq/kg	Na Tro. subst.)
Versuchsgruppe A (Normal)	6	3306 ± 63,4	312 ± 12,7	139 ± 9,93	3454 ± 191	340 ± 16,8	138 ± 8,8
Versuchsgruppe B (K-Infus.)	5	3618 ** ± 42,6	381** ± 8,76	151 ± 7,5	3686 ± 17,3	393* ± 9,4	138 ± 5,1
Versuchsgruppe C (Na-Infus.)	4	3636 ** ± 76,5	322 ± 16,1	178* ± 9,8	3597 ± 84	329 ± 14,3	157 ± 6,4
		Skeletmuskel (M. vastus)					
Versuchsgruppe A	6	3084 ± 83,7	367 ± 15	77,5 ± 8,7			
Versuchsgruppe B	5	3088 ± 70,7	343 ± 11,6	86,2 ± 10,8			
Versuchsgruppe C	4	3193 ± 29,6	335 ± 34,6	105 ± 18,7			
		Leber			Niere		
Versuchsgruppe A	6	2488 ± 60,4	309 ± 8,9	126 ± 6,5	3797 ± 135	303 ± 10,1	332 ± 2,5
Versuchsgruppe B	5	2840* ± 96,1	335 ± 16,9	148 ± 12,7	4493 ** ± 60,9	345* ± 14,1	369 ± 24
Versuchsgruppe C	4	2775* ± 184	301 ± 27,7	243*** ± 18,1	4680 *** ± 88,2	201*** ± 12,5	465* ± 55,8

* Statistische Auswertung (t-Test): Versuchsreihe gegen Normaltiere.
*** ($P < 0{,}001$) = Differenz sehr gut gesichert
** ($P < 0{,}01$) = Differenz gut gesichert
* ($P < 0{,}05$) = Differenz gesichert.

Das Verhalten des Hämatokrits und der Elektrolyte im *Serum* ist in je einem Beispiel für isotonische Na-Phosphatinfusion (Hund C) und hypertonische (5%ige) Na-Phosphatinfusion (Hund D) in der Abb. 3 dargestellt.

Schon 10 min nach Beginn der Na-Infusion kommt es zu einem zunehmenden Abfall des Hämatokrits, dem der Abfall der Chlorid-Konzentration etwa parallel geht. Sowohl der Anstieg des Serum-Natriums als auch der erhebliche Abfall des

Serum-Kaliums, der über den prozentualen Abfall des Hämatokrits eindeutig hinausgeht, sind von der Zufuhrgeschwindigkeit der Na-Ionen pro Körpergewicht oder mit anderen Worten von der Na-Menge pro Körpergewicht in der Zeiteinheit abhängig. In dem bei hoher Zufuhrgeschwindigkeit gewählten Beispiele (Hund D)

Tabelle 2. *Extra- und intracellulöre Verteilung (Konzentration) von H_2O, K und Na in Herz- und Skeletmuskulatur bei K- und Na-Infusionen* (Mittelwerte M und σ M).

	Zahl der Tiere	H_2O (g/kg) intrac.	H_2O (g/kg) extrac.	K (mäq/l) intrac.	K (mäq/l) extrac.	K-Quo.	Na (mäq/l intrac.	Na (mäq/l extrac.	Na-Quo.
Rechter Herzmuskel									
Versuchsgruppe A (Normal)	3	2566 ± 31,1	710 ± 9,8	110 ± 5,05	3,95 ± 0,35	28,1 ± 2,18	6,72 ± 0,71	148 ± 1,23	22,6 ± 2,51
Versuchsgruppe B (K-Infus.)	5	2843** ± 54,4	736 ± 34,1	132** ± 5,52	8,62*** ± 0,52	15,6** ± 1,24	13,4 ± 1,57	155 ± 5,61	12,1** ± 1,15
Versuchsgruppe C (Na-Infus.)	4	2870* ± 94,6	760 ± 26,9	112 ± 9,8	3,4* ± 0,2	33,8 ± 1,15	17,7*** ± 1,51	167 ± 11,9	9,7** ± 1,25
Linker Herzmuskel									
Versuchsgruppe A	3	2467 ± 146	659 ± 26	126 ± 15,1	3,95 ± 0,35	28,8 ± 2,1	10,8 ± 2,0	148 ± 1,32	14,8 ± 3,03
Versuchsgruppe B	5	3042** ± 39,9	645 ± 31,1	127 ± 2,3	8,62*** ± 0,52	14,9*** ± 2,26	12,1 ± 1,57	155 ± 5,61	13,2 ± 1,82
Versuchsgruppe C	4	2889 ± 103	711 ± 18,2	114 ± 8,8	3,4* ± 0,2	34,4* ± 0,52	13,3 ± 1,39	167 ± 11,9	13,4 ± 2,76
Skeletmuskel (M. vastus)									
Versuchsgruppe A	3	2705 ± 5,57	306 ± 3,07	113 ± 16,6	3,95 ± 0,35	29,2 ± 1,5	5,7 ± 0,91	148 ± 1,32	27,1 ± 3,77
Versuchsgruppe B	5	2719 ± 57,2	369** ± 12,7	125 ± 3,13	8,62*** ± 0,52	14,7*** ± 0,99	10,7* ± 1,1	155 ± 5,61	14,9* ± 0,89
Versuchsgruppe C	4	2806** ± 20,3	387*** ± 11,8	117 ± 13,0	3,4 ± 0,2	35,4 ± 2,3	14,5 ± 5,8	167 ± 11,9	19,2 ± 6,7

stürzt das Serum-K schon 10 min nach Infusions-Beginn von 5,5 auf 3,2 mäq/l ab, während das Natrium gleichzeitig — aber auffallenderweise weniger stark — ansteigt. Im weiteren Verlauf der Infusion steigt der Serum-K-Spiegel wieder etwas an. Bei langsamerer Infusionsgeschwindigkeit (Hund C) ist der Abfall nicht so abrupt, aber auf die Dauer ebenso intensiv.

Die in den *Organen* auftretenden Veränderungen der Na- und K-Konzentration sind aus den Tab. 1 und 2 zu entnehmen. Im *Herzmuskel* ist der Gesamtgehalt an Natrium in der rechten Herzkammer (signifikant für die 5%-Grenze) und in der linken Kammer (außerhalb der 5%-Grenze) erhöht. Hierbei handelt es sich nicht nur um eine Zunahme

infolge des deutlich erhöhten Wassergehaltes (+ 10%), sondern um eine echte Zunahme der intracellulären Natriumkonzentration im Herzmuskel, die besonders im rechten Herzen ausgeprägt und statistisch hoch signifikant (0,1%-Grenze) ist (Tab. 2). Das Natriumkonzentrationsgefälle wird dadurch signifikant (1%-Grenze) von 22,6 bei den normalen Kontrolltieren (Gruppe A) auf 9,7 herabgesetzt. Eine Änderung des Gesamt-K-Gehaltes im Herzmuskel läßt sich nicht beweisen. Im linken

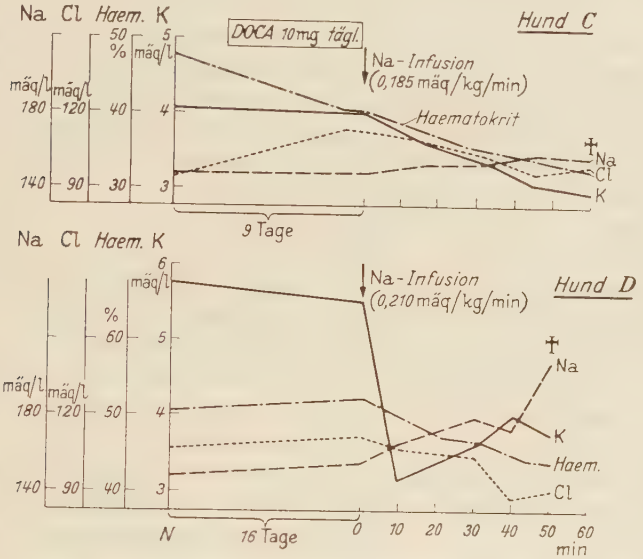


Abb. 3. Verhalten der Serum-Elektrolyte bei Na-Infusion nach Vorbehandlung mit DOCA.

Herzen fällt zwar eine geringe Abnahme der intracellulären K-Konzentration auf, die sich aber statistisch bei der kleinen Zahl der Versuchstiere nicht sichern läßt. Der *kardiale K-Quotient*, d. h. das Konzentrationsgefälle von intra- zu extracellulärem Kalium wird infolge des Absinkens der extracellulären K-Konzentration *signifikant erhöht* (von 28,8 auf 34,4 im linken Ventrikel). In der *Skeletmuskulatur* lassen sich dem Herzmuskel entsprechende Veränderungen der Na- und K-Konzentrationen feststellen, wenn auch eine statistische Sicherung bei der relativ kleinen Zahl und der Normalstreuung nicht erzielt werden kann. In der *Leber* fällt die Wasserzunahme um 12% des normalen Gehaltes auf. Der Natriumgehalt beträgt fast das Doppelte der Norm nach der Na-Phosphatinfusion, eine Veränderung des Kaliumgehaltes läßt sich nicht feststellen. In der *Niere* gehen ebenfalls starke Veränderungen des Wasser- und Elektrolytgehaltes vor sich. Der Wassergehalt nimmt um 25%, der Natriumgehalt um 40% zu, der Kaliumgehalt geht um 33% zurück.

Die Untersuchung der Elektrolytausscheidung im *Urin* zeigte unter DOCA-Vorbehandlung keine signifikante Vermehrung der K-Ausscheidung, wobei allerdings die eingeschränkte K-Zufuhr berücksichtigt werden muß. Gesamtmenge und Na-Ausscheidung gingen zurück. Die Untersuchung der renalen Elektrolytausscheidung während der Infusion mittels Blasenpunktion brachte bei der Kürze der Infusionsdauer keine verwertbaren Ergebnisse.

Besprechung der Ergebnisse.

Aus den Versuchen geht als wichtiges Ergebnis hervor, daß Infusionen eines Salzes bzw. von einseitigen Salzgemischen nicht nur eine Erhöhung der Serumkonzentration dieses Salzes bewirken, sondern auch Veränderungen der extra- und intracellulären Konzentrationen anderer Elektrolyte hervorrufen. Das Ausmaß der Veränderungen ist dabei von der Infusionsgeschwindigkeit weitgehend abhängig.

Bemerkenswerterweise sind die beobachteten Wasser- und Elektrolytverschiebungen im Herzmuskel ausgeprägter als im Skeletmuskel. Dies betrifft besonders das Übertreten von Wasser und der durch die Infusion zugeführten Ionen in den intracellulären Raum des Myokards. Eine Erklärung für dieses verschiedene Verhalten läßt sich zunächst nicht geben. Sowohl bei der Kalium- als auch bei der Natriuminfusion ist eine Anreicherung der zugeführten Kationen am Ort niedrigerer Konzentration zu beobachten. Das bedeutet bei der K-Infusion eine vorwiegende Zunahme der extracellulären und bei der Na-Infusion eine vorwiegende Erhöhung der intracellulären Konzentration des entsprechenden Ions. In beiden Fällen wird dadurch das Konzentrationsgefälle beidseits der Zellmembran im Herzmuskel für das infundierte Salz herabgesetzt. Das Bestreben der Herzmuskelzelle, nach jeder Kontraktion das der Diffusionstendenz entgegengerichtete K- und Na-Konzentrationsgefälle und damit das Membran-Ruhe-Potential wiederherzustellen[1, 2, 11, 13], wird besonders durch schnelle und überdosierte Salzinfusionen und die dadurch bewirkte Abflachung des Konzentrationsgefälles schwer beeinträchtigt bzw. unmöglich gemacht werden.

Die Beobachtung, daß die tödliche herzlähmende K-Dosis von 0,057 mäq K/kg/min beim Hund nur 8mal so stark ist wie die beim Menschen angewandte therapeutische Dosis von 0,007 mäq K/kg/min, mahnt erneut zur besonderen Vorsicht bei Kaliuminfusionen.

Nach neuerer, von Cannon u. Mitarb.[3] vertretener Auffassung können bei K-Mangel auch Na-Ionen toxisch wirken und nekrobiotische Vorgänge im Herzmuskel hervorrufen. Ein Kalium-Mangel liegt aber in einem Großteil der Fälle vor, die bisher mit Kochsalz-Infusionen behandelt wurden: bei Brechdurchfall, Gallenfistel, Pylorusstenose und anderen gastrointestinalen Erkrankungen.

Darüber hinaus bewirkt die Na-Infusion selbst einen K-Verlust, wie in den vorliegenden Experimenten sehr eindrücklich gezeigt werden

konnte. Kalium wird bei Zunahme der Diurese infolge einer Na-Salzinfusion auch bei K-Mangel des Organismus vermehrt in der Niere ausgeschieden und vielleicht auch intracellulär durch einwanderndes Natrium verdrängt[2]. Eine Bestätigung dieser Annahme scheinen die Analysenergebnisse der Niere darzustellen. Dieses Organ weist nach der Natriuminfusion eine Zunahme seines Wasser- und Na-Gehaltes um fast 30% auf, während der K-Gehalt der Trockensubstanz um mehr als 30% abnimmt. Die Leber fängt auch einen Teil des zugeführten Natriums sowie des Wassers auf, ein Kaliumverlust läßt sich jedoch nicht — ebensowenig wie in Herz- und Skeletmuskulatur — statistisch sichern.

Durch die starke Erniedrigung der extracellulären K-Konzentration infolge der Na-Infusion kommt es zu einer Erhöhung des K-Konzentrationsgefälles im Herzmuskel — in unseren Versuchen stieg der kardiale K-Quotient im linken Herzmuskel im Mittel von 28,1 auf 34,4 signifikant an — und zu den dafür typischen EKG-Veränderungen[8].

Zusammenfassung.

An Hunden werden die Wasser- und Elektrolytverschiebungen in Serum, Herzmuskel, Skeletmuskel, Leber und Niere nach Infusionen von Kalium- und Natriumsalzen untersucht. Neben der Konzentrationszunahme des zugeführten Ions lassen sich besonders im Herzmuskel erhebliche Veränderungen der intra- und extracellulären Konzentrationen anderer Elektrolyte nachweisen. Die Störung des Konzentrationsgefälles von K und Na an der Membran der Herzmuskelzelle wird als Ursache der bei Salzinfusionen auftretenden Herzkomplikationen und EKG-Veränderungen angesehen und diskutiert.

Literatur.

[1] Bernstein, J.: Pflügers Arch. **92**, 521 (1902). — [2] Boyle, P. J., and E. J. Conway: J. of Physiol. **100**, 1 (1941). — [3] Cannon, P. R., L. E. Frazier and R. H. Hughes: Metabolism **2**, 297 (1953). — [4] Ehlers, Th.: Inaug. Diss. Göttingen 1954. — [5] Fleckenstein, A.: Pflügers Arch. **246**, 411 (1942); **250**, 643 (1948). — [6] Kühns, K., u. G. Müller: Z. physiol. Chem. **294**, 86 (1954). — [7] Kühns, K.: Verh. dtsch. Ges. Kreislaufforsch. **1954**, 384. — [8] Kühns, K.: Z. Kreislaufforsch. (im Druck). — [9] Kühns, K.: Z. physiol. Chem. **298**, 278, (1954). — [10] Lenzi, F., e A. Canniggia: Gli elettroliti nella funzione contractile del miocardio, la Poligrafica, Siena 1952. — Schweiz. med. Wschr. **1952**, 1150. — [11] Rothschuh, K. E.: Elektrophysiologie des Herzens. Darmstadt: Steinkopff 1952. — [12] Ruczniak, O.: Biochem. Z. **114**, 23 (1921). — [13] Schaefer, H.: Das Elektrokardiogramm. Heidelberg: Springer 1951. — [14] Sundermann, W., and P. Williams: J. of Biol. Chem. **102**, 279 (1933). — [15] Szent-Györgyi, A.: Biol. Bull. **96**, 104 (1949). Chemistry of muscular contraction, 2. Aufl. New York: Acad. Press 1 u. 2, 1951. — [16] Vartiainen, J., K. Bassmann and L. Haikanen: Endocrinology (Springfield, Ill.) **47**, 130 (1950). — [17] Weber, H. H., u. H. Portzehl: Erg. Physiol. **47**, 369 (1952).

Priv.-Doz. Dr. K. Kühns, Göttingen, Medizinische Universitätsklinik.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 224, S. 262—268 (1955).

Aus der Hautklinik der Akademie für Medizinische Forschung und Fortbildung der Justus-Liebig-Hochschule Gießen (Direktor: Prof. Dr. R. M. Bohnstedt).

Tierexperimentelle Untersuchungen über einen ACTH-Effekt des Terpentinöls.

Von

R. M. Bohnstedt und W. Lanz.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. August 1954.)

1949 berichtete der eine von uns über Erfolge bei Anwendung des 40%igen Olobintins[1] (Ol.) im akuten Stadium des Ekzems.

Damals wurden Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus des Ol. angestellt, wobei sich ergab, daß es zu einem Abfall der Eosinophilen, zu einem Anstieg der Leukocyten, zum Abfall der Lymphocyten und zur Erhöhung des Nüchternblutzuckers kommt. Diese Verschiebungen wurden im Sinne der Hoffschen Konzeption über die vegetative Gesamtumschaltung gedeutet. Es wurde angenommen, daß das Ol. ein Übergewicht des Sympathicus herbeiführt. Unsere klinischen Erfolge wurden inzwischen in der Löheschen Klinik in Berlin (Doht) bestätigt. In den letzten Jahren konnten wir uns weiterhin durch Anwendung des Ol. bei Ekzemen im akuten Stadium von seiner Wirksamkeit immer wieder überzeugen; ja, wir haben darüber hinaus die Indikationen erweitert und haben Ol. verschiedentlich bei schlecht auf äußere Therapie ansprechenden Psoriasisfällen angewandt sowie bei einigen Fällen von Erythema exsudativum multiforme. Wir konnten dabei beobachten, daß die bis dahin schlecht beeinflußbaren Psoriasisfälle nach Ol.-Darreichung gut auf die weitere äußere Therapie ansprachen. Ebenso war es auffällig, wie schnell, oft geradezu schlagartig, sowohl die Hauterscheinungen der multiformen Erytheme als auch die Schleimhautveränderungen nach Ol. schwanden. Da sowohl bei Psoriasis als auch bei akuten Ekzemen und bei multiformen Erythemen ähnliche Erfolge nach Anwendung von ACTH beobachtet wurden, lag der Gedanke nahe, daß es bei Anwendung des Ol. zu einer Stimulierung der Hypophysentätigkeit und zur Ausschüttung von ACTH kommt[2]. Das war um so eher anzunehmen, als nach Anwendung von ACTH ähnliche Verschiebungen im Blute vonstatten gehen, wie sie von Hoff im Sinne seiner vegetativen Umschaltung postuliert wurden. Über die Möglichkeit einer ACTH-Stimulierung bei Anwendung anderer Reiztherapeutica (Pyrifer, Omnadin) berichteten jüngst Zöllner u. Fuchs sowie Sandritter.

---

[1] Bei dem von der Firma Riedel-De Haën hergestellten Olobintin handelt es sich um eine Terpentinöl-Ol.oliv.-Lösung.

[2] Gleiche Beobachtungen bezüglich ähnlicher Therapieeffekte bei Anwendung von ACTH und eines Terpentinabscesses konnten Martini u. Schmidt bei Erkrankungen der Atemwege (außer Tbc.), insbesondere Asthma, treffen, worüber sie auf dem Nürnberger Internistenkongreß 1954 berichteten.

Aus allen diesen Erwägungen heraus erschien es uns lohnend, im Tierversuch zu untersuchen, inwieweit das Ol. auf die Nebennierenrinde (NNR) einwirkt.

Wir gingen dabei von den bekannten Untersuchungen Tonuttis aus, die den Nachweis erbrachten, daß das adreno-corticotrope Hormon (ACTH) einen morphokinetischen Effekt auf die NNR ausübt, woraus strukturelle Änderungen der NNR resultieren.

Tonutti unterscheidet die Stadien der regressiven und der progressiven Transformation und spricht von einem zentralen und einem peripheren Reservefeld der NNR; diese entsprechen ungefähr der Zona glomerulosa und der Zona reticularis. Im Stadium der progressiven Transformationen kommt es zur Hyperplasie und Hypertrophie der NNR und zu einer Umwandlung ihrer Struktur in dem Sinne, daß das zentrale und das periphere Reservefeld „gestaltlich und histochemisch die Struktur der Zona fasciculata annehmen". Die Zellen werden heller, man sieht häufiger Mitosen, die Kernvolumina nehmen zu, es kommt zu einer Anreicherung von Lipoiden und Ascorbinsäure in der Rinde und zum Auftreten von Lipoiden in bisher lipoidfreien Bezirken.

Die Fragestellung bei unseren Versuchen war somit die: Führt Ol. in der NNR eine progressive Transformation herbei?

Versuchsanordnung und Methodik.

Die Versuche wurden an 55 weißen Ratten (Gewicht 150—190 g) und an 24 Meerschweinchen (Durchschnittsgewicht 250 g) durchgeführt. Die Tiere wurden homogenen Stämmen entnommen. Die jeweiligen Versuchsserien waren in allen Bedingungen gleichartig (Alter, Geschlecht, Umwelt).

Allen Tieren wurde in steigender Dosierung 40%iges Ol. in die Glutaealmuskulatur injiziert. Wir begannen mit Dosen, die für Tiere relativ hoch lagen, um die erwarteten eventuellen Veränderungen der NNR-Morphologie möglichst augenfällig zu erhalten und gaben dementsprechend zu Beginn 1 cm^3 Ol. Im Verlauf der Experimente variierten wir dann die Dosierung nach unten und oben, d. h. unter Abstufung von je $^1/_{10}$ cm^3 bis zur Minimalgabe von 0,1 cm^3 und einer Maximalapplikation von 2,0 cm^3. Um eine genaue Dosierung zu gewährleisten, wurden die Ratten dazu mit Äther annarkotisiert; die technisch einfachere Injektion bei den Meerschweinchen wurde ohne Äther ausgeführt.

Die Tötung der Tiere erfolgte durch Leerbluten in Äthernarkose. Der Tod durch Entblutung erschien zur besseren histologischen Darstellung der Organe wünschenswert und schuf außerdem stets gleichbleibende Bedingungen für die Untersuchung. Die Tötung wurde in verschiedenen Zeiträumen vorgenommen (von einigen Stunden post inj. bis zu 10 Tagen). Auf diese Weise konnten wir den optimalen Wirkungsgipfel herausfinden.

Die histologischen Schnitte wurden nach folgenden Verfahren angefertigt:

A. Formolfixierung 10%; *Gefrierschnitt* 15 μ; Färbung: a) Hämatoxylin-Eosin, b) Fettfärbung (Aceton-Scharlachrot, Kernfärbung m. Hämalaun).

B. Formolfixierung 10%; Einbettung in *Paraffin*; Schnitt 18 μ; Azanfärbung nach Heidenhain (Bindegewebsfärbung).

In Kontrollversuchen wurde statt Ol. die gleiche Menge Ol.oliv., mit dem das Terpentinöl bei dem Präparat verdünnt ist, angewandt. Weitere Kontrollversuche wurden mit physiologischer Kochsalzlösung in entsprechender Menge durchgeführt.

Ergebnisse.

Wir beobachteten bei allen Tieren eine Motilitätsbeeinträchtigung, abnehmende Appetenz, forcierte Atmung und gesteigerten Durst = Fieber; die Tiere boten einen kranken Eindruck (gesträubte Rückenhaare, und bei Ratten Fehlen der „Putzlust"). Das Maximum der Wirkung lag zwischen dem 3. und 5. Tag, ließ dann langsam nach, um etwa am 8. Tag zu verschwinden, so daß im Durchschnitt 8—10 Tage post. inj., je nach Dosierungshöhe, autoptisch eine Restitutio ad integrum nachzuweisen war. Auch das sterile Infiltrat bzw. der Absceß war makroskopisch nicht mehr erkennbar. Bei Dosierung unter 0,5 cm^3 wurde das betreffende Bein meist nur in Schonstellung gehalten und die oben geschilderten Veränderungen waren nur schwach oder nicht erkennbar.

Makroskopisch fiel auf, daß alle Tiere, die Ol. in hoher Dosierung erhielten, eine deutlich vergrößerte NN aufwiesen. Diese Reaktion trat etwa am 3.—5. Tag post. inj. am stärksten hervor, war jedoch über die „klinischen" Erscheinungen hinaus noch längere Zeit verfolgbar und nicht in direkten Einklang mit der Schwere des „klinischen" Zustandes zu bringen. Weiterhin konnte häufig, schon beim Aufspalten der NN. makroskopisch eine Verbreiterung der Rindenformation beobachtet werden. Meerschweinchen erwiesen sich dabei empfindlicher als Ratten.

Histologie.

Im Schnitt zeigte sich bei allen Tieren, selbst noch bei der von uns gewählten Minimaldosis von 0,1 cm^3, als markantestes Stigma eine durch Dosierung, Zeit und Species graduell verschieden starke Verwischung der NNR-Zonengrenzen. Die Dreiteilung der Rindenformation zeigte alle Stufen bis zur fast vollständigen Vereinheitlichung des Zellbildes (siehe Abb. 1 und 2). Die Differenzierung der Zellen wich zugunsten eines Einheitsbildes vom Typ der Zona fasciculata. Mehr oder weniger stark trat gleichzeitig eine Kapselverdünnung in Erscheinung. Die Zona glomerulosa „schmolz weg", die Limitierung zwischen beiden Bezirken war nur noch schlecht oder nicht mehr ausgeprägt. Es traten häufiger Mitosen auf, besonders in der äußeren Fasciculataschicht.

Auf die Messung der Kernvolumina haben wir im Rahmen dieser Arbeit verzichtet, da ihre Vergrößerung ohnehin auffiel, ebenso wie die Zunahme der Zellengrößen.

Die Veränderungen im inneren Reservefeld waren ebenfalls deutlich, die Zellen der Zona reticularis wurden größer und zeigten wiederum verwaschene, undeutliche Grenzen. Weiterhin kam es zu deutlicher Cytoplasmavacuolisierung; fettfreie Vacuolen in den Epithelien ergaben Wabenzellenbilder (siehe Abb. 3). Das Auftreten von Lichtungen im Gesamtparenchym der einheitlichen Rinde ergab eine charakteristische säulenartige Zellanordnung.

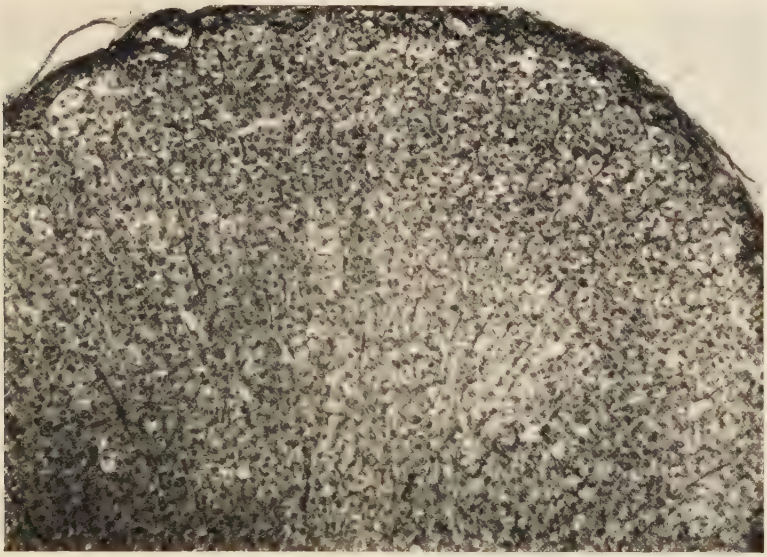


Abb. 1. Meerschweinchen-Nebennierenrinde: 0,3 cm³ Olobintin i.m., 72 Std post inj. Einheitliches Zellbild mit Aufhebung der Zonengrenzen, Capillarerweiterung, Hyperämie. Hämatoxylin-Eosinfärbung. Foto, Optik: Okular 10 ×, Objektiv 3.

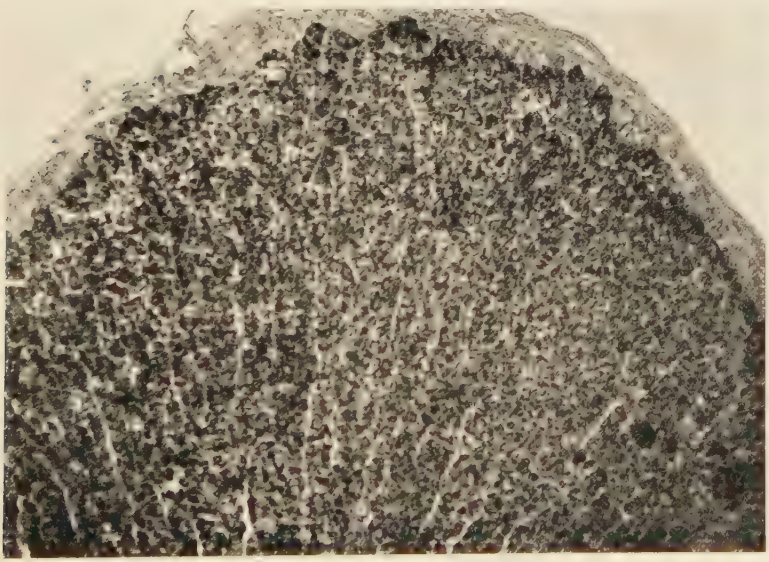


Abb. 2. Meerschweinchen-Nebennierenrinde: 0,3 cm³ Olobintin i.m., 96 Std post inj. Erhebliche Verbreiterung der Lipoidzone und Auflockerung der normalerweise dichten Lipoidablagerungen in den Rindenzellen; deutliche Säulenanordnung in den marknahen Rindenabschnitten. Hämatoxylin-Scharlachrotfärbung. Foto, Optik: Okular 10 ×, Objektiv 3.

Die Fettschnitte zeigten fast durchweg streifen- und fleckförmige Aufhellungsbezirke, die in das Übersichtsbild eine gewisse Unruhe brachten.

Die doppelbrechenden Lipoide wiesen einen erheblichen und zeitlich viel früher als die anderen Veränderungen faßbaren Rückgang auf, während die Lipoide in ihrer Gesamtheit meist zarttropfiger wurden und sich weiter über die Rinde ausbreiteten, jedoch in der Einzelzelle vermindert angehäuft in Erscheinung traten. Meist, besonders bei hoher Dosierung, war ein stärkerer Grad von Hyperämisierung nachzuweisen (siehe Abb. 2). Blutungen oder hämorrhagische Nekrosen konnten jedoch, auch bei höchster Dosierung, nicht festgestellt werden. Ödeme, Zellkern- oder Protoplasmaschädigungen oder sonstige toxische Erscheinungen wurden nicht beobachtet.

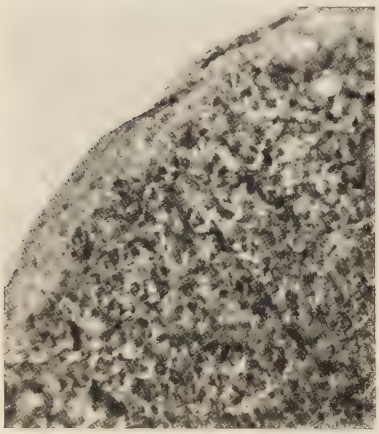


Abb. 3. Meerschweinchen-Nebennierenrinde: 0,5 cm³ Olobintin i.m. 96 Std post inj. Beginnende Lipoidentspeicherung der äußeren Anteile der Zona fasciculata. Hämatoxylin-Scharlachrotfärbung. Foto, Optik: Okular 10×, Objektiv 3.

Wurde einem Tier 2—3 Wochen post inj. die NN entfernt, dann trat in jedem Falle die Dreiteilung der NNR-Struktur wieder scharf zutage und es konnten keinerlei Veränderungen des Zellscharakter oder der Fett- und Lipoidverteilung mehr aufgedeckt werden. Meist trat sogar die Zonengliederung deutlicher hervor als beim unbehandelten Kontrolltier.

Einseitige Adrenalektomie erforderte bei allen Tieren (10 Versuche) zur Demonstration obiger Befunde eine durchweg höhere Dosierung an Ol.; wohl deshalb, weil das verbliebene Restorgan durch kompensatorische Hypertrophie sich bereits in einer morphokinetisch veränderten Ausgangslage befand, in der die Rindenschicht bereits verbreitert war, d. h. auf eine schon bestehende gesteigerte Funktionsanpassung der NNR eine zusätzliche Stimulierung aufgepfropft wurde. Ähnlich lagen die Verhältnisse bei kastrierten (4 Versuche) oder graviden Ratten (3 Versuche).

Die doppelseitige Adrenalektomie ergab das erwartete Resultat: die Ratten, die sonst bei kaliumarmer und kochsalzreicher Kost 6—8 Wochen post operationem am Leben erhalten werden konnten, starben nach Injektion von relativ kleinen Mengen von Ol. innerhalb einer Zeitspanne von etwa 6—18 Std, d. h. die Tiere waren durch das Fehlen der NN nicht mehr in der Lage, sich an die gesteigerte Anforderung zu adaptieren.

An den sonstigen inneren Organen (Niere, Leber, Herz, Milz) war bei der Sektion der Tiere weder makro- noch mikroskopisch eine wesentliche Veränderung nachzuweisen. Insbesondere waren keine Leberverfettung, keine trüben Schwellungen der Leber oder Nieren und keine degenerativen Herzmuskelschädigungen zu erkennen.

In sämtlichen Kontrollversuchen (6 Versuchen mit Ol. oliv. bei Meerschweinchen, sowie 5 Versuchen an Meerschweinchen und 10 an Ratten mit physiologischer Kochsalzlösung) war keine progressive Transformation festzustellen. An der NNR war histologisch ein normaler Befund zu erheben, auch das Verhalten der Tiere blieb unverändert.

Im Anschluß an die beschriebenen Versuche über die Einwirkung des Ol. auf die NNR führten wir noch einige orientierende Versuche an Ratten durch, mit dem Ziel, zu eruieren, inwieweit die beim Menschen beobachteten Verschiebungen im Blutbild beim Tier zutreffen und ob eine Parallelität zwischen den morphokinetischen Veränderungen der NNR und den Veränderungen im strömenden Blut besteht.

Wir zählten die Eosinophilen, die Leukocyten, die Segmentkernigen und die Lymphocyten 2 Tage vor und während 8 Tagen nach der Injektion von Ol. Die Tiere hatten das gleiche Gewicht und stammten aus derselben Zucht wie die der ersten Versuchsreihe. Die Dosierung des Ol. war die gleiche. Die Zählung der Eosinophilen wurde nach der Methode von Dunger durchgeführt, die Auszählung der übrigen Zellen erfolgte in der üblichen Weise.

Ergebnisse dieser Reihe:

In 14 Versuchen beobachteten wir stets einen deutlichen Abfall der Eosinophilen, einen Anstieg der Leukocyten und der Segmentkernigen und einen Abfall der Lymphocyten.

Das Maximum des Abfalls war übereinstimmend mit dem Maximum der „klinisch" beobachteten Veränderungen und fiel mit dem Gipfelpunkt der morphokinetischen Veränderungen zusammen. Wir sehen davon ab, die Kurven der Verschiebungen wiederzugeben. Wir glauben, aus diesen zusätzlichen Orientierungsversuchen die Schlußfolgerung ziehen zu können, daß nach Ol. beim Tier die gleichen Veränderungen des Blutbildes wie beim Menschen zu erkennen sind. Am wichtigsten erscheint uns die Feststellung, daß die stärkste Verschiebung im Blutbild auf dem Höhepunkt der progressiven Transformation erfolgt, was wohl eine Folge der Glucocorticoidausschwemmung ist.

Besprechung der Ergebnisse.

Auf Grund unserer Untersuchungen glauben wir behaupten zu können, daß das Terpentinlöl, zum mindesten im Tierversuch, die Tätigkeit der NNR stimuliert und eine progressive Transformation der NNR-Struktur hervorruft. Diese Wirkung würde also einem ACTH-Effekt entsprechen und man müßte annehmen, daß sie über die Hypophyse zustandekommt. Dies scheint im Widerspruch zu unserer früheren Deutung der Ol.-Wirkung — als einer Umschaltung der vegetativen Regulationen im Sinne Hoffs — zu stehen. Nun können aber auf Grund der neueren Ergebnisse der endokrinologischen Forschung die von uns seiner Zeit registrierten Veränderungen nach Ol.-Darreichung, wie Anstieg der Leukocyten, Abfall der Eosinophilen, Anstieg der Neutrophilen,

Abfall der Lymphocyten, Erhöhung der Nüchternblutzuckerkurve, verminderte Kohlehydrattoleranz und Erniedrigung des Kalium-Calcium-Quotienten auch als ein Glucocorticoideffekt aufgefaßt werden. Die sich auf den ersten Blick widersprechenden früheren und jetzigen Deutungsmöglichkeiten lassen sich aber gut in Einklang bringen, da enge Beziehungen zwischen dem vegetativen und dem innersekretorischen System bestehen und da nach den Untersuchungen von Tonutti und Spatz die Hypophyse den Impuls zur ACTH-Ausschüttung aus dem Diencephalon empfängt.

Wenn bekanntlich in früheren Zeiten alle möglichen Hypothesen[1] über den Wirkungsmechanismus des Ol. und der Reizkörpertherapie im allgemeinen aufgestellt wurden, die — wie uns scheint — recht spekulativ waren, glauben wir mit unseren Untersuchungen gezeigt zu haben, daß das Wesen der sogenannten Umstimmungstherapie, zum mindesten beim Terpentinöl, auf einer Aktivierung des Reaktionsmechanismus Hypophyse-Nebennierenrinde beruht.

Zusammenfassung.

Auf Grund von klinischen Erfahrungen, aus denen hervorzugehen schien, daß die Darreichung von Olobintin bei Dermatosen einen ähnlichen Effekt hervorruft wie das Cortison und das ACTH, wurde in Tierversuchen geprüft, inwieweit das Olobintin 40% die Tätigkeit der Nebennierenrinde stimuliert. In 73 Versuchen konnte an Meerschweinchen und Ratten nachgewiesen werden, daß nach Applikation von Ol. die Nebennierenrinde im Sinne einer progressiven Transformation verändert wird, womit die klinische Vermutung, daß die Olobintinwirkung einen ACTH-mimetischen Effekt hat, bestätigt wurde.

Literatur.

Bohnstedt, R. M.: Z. Hautkrkh. **7**, 241 (1949). — Doht, W.: Ther. Gegenw. **1950**, 299. — Gölkel, A., u. K. Steindl: Ärztl. Forsch. **5**, 444 (1951). — Hoff, F.: Dtsch. med. Wschr. **1953**, 504, 600; **1952**, 65, 112, 148. — Krause, S.: Inaugural-Dissertation Hautklinik Marburg (1950). — Pfeffer, K. H., u. H. J. Staudinger: Klin. Wschr. **1952**, 257, 306. — Sandritter, W.: Verh. dtsch. path. Ges. 165, (1952). — Selye, H.: Dtsch. med. Wschr. **1951**, 964, 1001. — Spatz, H.: Acta neurovegetativa (Wien) **3**, 5 (1952). — Tonutti, E.: Verh. dtsch. path. Ges. **36**, 123 (1953). — Neue med. Welt **4**, 111 (1950). — Pharmazie **4**, 441 (1949). — Mitteilungen Behring-Werk, Sonderdruck 25. — Zöllner, N., u. U. Fuchs: Ärztl. Forsch. **6**, 111 (1952).

Professor Dr. R. M. Bohnstedt, Hautklinik der Akademie für med. Forschung u. Fortbildung der Justus-Liebig-Hochschule, Gießen.

[1] Diese Hypothesen sind in einer 1949 in Marburg verfaßten Inauguraldissertation zusammengestellt (Sigrid Krause): „Ein Beitrag zur unspezifischen Reizkörpertherapie in der Behandlung von Dermatosen."

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 224, S. 269—274 (1955).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Medizinischen Akademie
der Justus-Liebig-Hochschule Gießen, zur Zeit Bad Nauheim, Kerckhoff-Institut
(Direktor: Prof. Dr. F. Hildebrandt).

Über eine hyperglykämische Wirkung von Reserpin*.

Von
H. J. Kuschke und J. Frantz.

(Eingegangen am 2. November 1954.)

Neugebauer und Lang beschrieben eine blutzuckersenkende Wirkung des Gesamtextraktes von Rauwolfia serpentina bei gesunden Versuchspersonen und Diabeteskranken sowie eine komaverhindernde Wirkung bei alloxandiabetischen Ratten. Bei Gelegenheit anders ausgerichteter Versuche mit Reserpin fiel uns auf, daß dieses Einzelalkaloid aus Rauwolfia serpentina dagegen eine beträchtliche Steigerung des Blutzuckerspiegels bei Kaninchen bewirkte, was uns Anlaß gab, diesem Effekt näher nachzugehen.

Methodik.

Die Versuche wurden an 20 bei Versuchsbeginn 12—14 Std nüchternen Kaninchen und an 6 Hunden durchgeführt. Blutentnahmen aus einer Ohrvene. Doppelbestimmungen der reduzierenden Substanzen nach Hagedorn-Jensen. Bei 5 Kaninchen Versuche nach 1—4 Wochen vorausgegangener doppelseitiger Splanchnikotomie. Reserpin wurde in wäßriger Lösung unter Zusatz von 10% Diäthylacetamid als Lösungsvermittler subcutan, bei den Hunden intravenös, injiziert. Kontrollversuche mit Injektion entsprechender Mengen Diäthylacetamid ergaben keine Blutzuckersteigerungen.

Ergebnisse.

Die im folgenden mitgeteilten Befunde beziehen sich auf Versuche an Kaninchen. Um ein Bild von Stärke und Verlauf der Hyperglykämie sowie über die wirksamen Dosen zu gewinnen, wurden Mengen von 0,1, 0,2, 0,3, 0,5 und 1,0 mg/kg injiziert und der Blutzuckerspiegel zu verschiedenen Zeitpunkten, meist nach 2, 4, 6, 8, 10 und 12 Std, bestimmt. Die Tab. 1 gibt eine Übersicht über Ausgangswerte und maximale Steigerungen des Blutzuckers bei den 5 verschiedenen Reserpindosen. Die hyperglykämische Wirkung schwankte innerhalb der einzelnen Dosierungsgruppen von Tier zu Tier und auch bei in Abständen wiederholter Injektion der gleichen Dosis an demselben Tier beträchtlich. Wie die Tabelle zeigt, kam es zu einer regelmäßig auftretenden Wirkung bei 0,3 mg/kg. Eine Steigerung der Wirkung trat mit Erhöhung der Dosis

* Wir danken der Firma C. F. Boehringer u. Söhne, Mannheim, für die benötigte Reserpin-Substanz.

auf 0,5 und 1,0 mg/kg nicht ein. Wie die sedative Reserpinwirkung sehr langsam einsetzt und gewöhnlich erst 1—2 Std nach der Injektion deutlich wird, so trat auch die Hyperglykämie langsam ein. 2 Std nach der Injektion war meist erst eine geringe oder noch keine Erhöhung des Blutzuckerspiegels vorhanden. Das Maximum der Wirkung lag gewöhnlich

Tabelle 1. *Nüchternwerte und maximale Steigerungen des Blutzuckers durch verschiedene Reserpindosen.*

Kaninchen Nr.	Nüchternwert mg%	max. Steigerung mg%
	0,1 mg/kg	
31	94	108 (+ 15%)
39	106	—
47	120	124 (+ 3%)
56	100	103 (+ 3%)
88	108	119 (+ 10%)
92	112	117 (+ 4%)
	0,2 mg/kg	
30	99	109 (+ 10%)
36	93	102 (+ 10%)
40	83	127 (+ 53%)
41	97	117 (+ 21%)
55	100	103 (+ 3%)
52	107	—
	0,3 mg/kg	
36	94	192 (+105%)
38	97	249 (+157%)
39	115	207 (+ 80%)
41	113	195 (+ 72%)
42	124	178 (+ 44%)
43	102	—
46	106	194 (+ 83%)
47	95	193 (+103%)
87	107	165 (+ 54%)
88	96	203 (+111%)
24	111	166 (+ 50%)
92	114	220 (+ 93%)
	0,5 mg/kg	
30	106	227 (+114%)
35	96	156 (+ 62%)
36	99	109 (+ 10%)
37	96	118 (+ 23%)
39	81	242 (+198%)
40	103	196 (+ 90%)
41	94	123 (+ 31%)
42	93	157 (+ 69%)
43	99	114 (+ 15%)
	1,0 mg/kg	
30	89	225 (+152%)
35	102	147 (+ 44%)
37	105	147 (+ 40%)
38	106	121 (+ 14%)
39	109	114 (+ 5%)
40	88	159 (+ 80%)

zwischen 6 und 10 Std, manchmal schon früher, manchmal erst später. Ein paralleler Verlauf zwischen sedativ-hypnotischer und hyperglykämischer Wirkung war nicht die Regel; starke Hyperglykämie konnte mit geringer sedativer Wirkung einhergehen und umgekehrt.

Die Frage nach der Entstehungsweise der Reserpin-Hyperglykämie völlig zu klären, war nicht beabsichtigt, jedoch wurden einige Faktoren untersucht, deren Beteiligung dabei in Frage kommt.

Hypothermie. Die im Reserpinschlaf auftretende Temperatursenkung ist ohne die Annahme einer Beeinflussung temperaturregulierender Zentren durch verringerte Wärmebildung und erhöhte Wärmeabgabe der Tiere infolge Senkung des Muskeltonus und Steigerung der peripheren

Durchblutung zu erklären. Bei 7 von 10 Tieren, die während des Versuches bei Raumtemperatur gehalten wurden, sank die Rectaltemperatur bis um maximal 3° C ab. Jedoch setzte der Temperaturabfall bei zweien davon erst 2—3 Std nach Beginn der Blutzuckersteigerung ein. Bei den übrigen 3 Tieren sank die Temperatur während des Versuchs nicht ab, während der Blutzuckerspiegel dagegen stark anstieg. Bei einem Tier wurde ein Absinken der Temperatur durch Erwärmen verhindert, trotzdem kam es zu einer starken und langanhaltenden Hyperglykämie bis zu 180 mg%.

Hypoxie. Atemtiefe und Atemfrequenz des nicht anaesthesierten Tieres werden nach Bein, Gross, Tripod u. Meier auch nach sedativ hypnotischen Dosen nur wenig verändert. Trapold, Plummer u. Yonkman fanden bei narkotisierten Hunden, daß nach 0,5—1,0 mg/kg Reserpin i.v. trotz deutlicher Senkung von Atemfrequenz und Atemvolumen der arterielle O^2-Gehalt nicht auf hypoxische Werte absinkt.

Wir beobachteten eine Verringerung der Atemfrequenz nur in einem Teil der Versuche. Die hyperglykämische Wirkung trat auch bei Tieren mit etwa gleichbleibender Atemfrequenz auf. Nach diesen Befunden ist nicht anzunehmen, daß Hypothermie und Atemdepression mit der Reserpinhyperglykämie ursächlich in Beziehung stehen.

Zuckertoleranz. Zur Prüfung einer etwaigen Beeinflussung der Glucosetoleranz erhielten 8 Kaninchen 1 g/kg Glucose als 20%ige Lösung durch die Schlundsonde, und der Blutzuckerspiegel wurde danach in halbstündigen Abständen 3—4 Std lang verfolgt. Reserpin, in den Dosierungen 0,1 und 0,3 mg/kg 4 oder 16 Std vor der Glucosegabe injiziert, hatte keinen deutlichen Einfluß auf den Ausfall der Belastungskurven.

Reserpinwirkung nach Splanchnikotomie. Bei 4 splanchnikotomierten Tieren war die hyperglykämische Wirkung von 0,3 mg/kg Reserpin ebenso stark wie an normalen. Die maximalen Blutzuckersteigerungen in den vier Versuchen betrugen 120, 145, 195 und 215% der Nüchternwerte.

Auffallend war, daß die sedativ hypnotische Wirkung bei den splanchnikotomierten Tieren viel stärker war und länger anhielt als bei Normaltieren. Entsprechend kam es auch zu stärkeren Senkungen der Rectaltemperatur, die nach 2 Tagen noch zwischen 30 und 33° C lag. Die Hyperglykämie trat hier, wie bei normalen Tieren, auch ein, wenn die Temperatur durch Erwärmen aufrecht erhalten wurde. Zwei der splanchnikotomierten Tiere gingen 2 Tage nach der Injektion ein, was bei den normalen nie vorkam.

Aus diesen Befunden an splanchnikotomierten Tieren kann unseres Erachtens nicht der Schluß gezogen werden, daß für den Mechanismus der Reserpin-Hyperglykämie eine Beteiligung sympathischer Nerven mit Adrenalinausschüttung aus dem Nebennierenmark auszuschließen ist. Einmal dürfte mit der Durchschneidung der Nn. splanchnici beim Kaninchen eine völlige Denervierung der Nebennieren noch nicht sichergestellt sein, und zum andern kann eine Erregung in anderen

sympathischen Substraten eine Hyperglykämie durch Angriff in der Leber und Muskulatur bewirken. Auch würde eine solche Annahme nicht mit dem im folgenden erhobenen Befund einer Hemmung der Reserpin-Hyperglykämie durch ein Sympathicolyticum übereinstimmen.

Beeinflussung der Reserpin-Hyperglykämie durch Hydergin. Die Morphin-Hyperglykämie, durch Erregung hypothalamischer und sympathischer Substrate mit Adrenalinausschüttung aus den Nebennieren bedingt (Brooks, Goodwin und Willard; Kreuger, Eddy und Sumwalt), ist durch Ergotamin oder die hydrierten Mutterkornalkaloide zu hemmen (Moeller; Phatak und David). In gleicher Weise ließ sich auch die Reserpin-Hyperglykämie durch hydrierte Mutterkornalkaloide beeinflussen. Bei 6 Kaninchen wurde der Blutzuckerspiegel 2, 4, 6, 8 und 10 Std nach 0,3 mg/kg Reserpin bestimmt und 1 und 4 Std nach der Injektion 0,2 mg/kg Hydergin subcutan gegeben. Wie die Tab. 2 zeigt, kam es nur bei einem Tier zu einer geringen Blutzuckersteigerung von + 17%. Die maximalen Werte lagen bei den anderen 5 Tieren innerhalb der spontanen Schwankungsbreite. 3 Wochen später zeigten alle 6 Tiere auf die gleiche Dosis Reserpin ohne gleichzeitige Hydergingabe eine deutliche Hyperglykämie. Die verwendete Hydergindosis entspricht etwa der zur völligen Unterdrückung der Adrenalinhyperglykämie (nach 100 γ/kg s. c.) notwendigen Dosis von 0,15 mg/kg Dihydroergotamin (Rothlin).

Tabelle 2. *Maximale Blutzuckersteigerung nach Reserpin (0,3 mg/kg s. c.) in Prozent des Nüchternwertes, mit und ohne Hyderginbehandlung (0,2 mg/kg 1 u. 4 Std nach Reserpin).*

Kaninchen Nr.	mit Hydergin %	ohne Hydergin %
24 ♀	107	150
47 ♀	109	139
88 ♀	105	123
41 ♂	109	181
56 ♂	100	154
87 ♂	117	140

Eine sedative Reserpinwirkung war bei den gleichzeitig mit Hydergin behandelten Tieren überhaupt nicht oder nur in geringem Ausmaß zu beobachten, während sie in den Kontrollversuchen in der bekannten Weise vorhanden war. Eine derartige Hemmung der sedativen Reserpinwirkung durch ein Sympathicolyticum haben bereits Tripod, Bein und Meier mit Regitin an der Maus beschrieben.

Versuche an Hunden. Da Kaninchen besonders labile und reagible Versuchstiere sind, war mit der Möglichkeit zu rechnen, daß Reserpin nur bei diesen Tieren die Blutzuckerregulation beeinflußt. Wir führten daher Versuche an 6 Hunden durch[1]. Dabei wurde Reserpin in den Dosen 0,1, 0,2 und 0,3 mg/kg i.v. gegeben und der Blutzuckerspiegel nach 4, 6, 8, 24 Std und 1 Woche, nach Abklingen der sedativen Wirkung, kontrolliert. Auch bei den Hunden kam es in allen Fällen zu einer Erhöhung des

[1] Durch Freundlichkeit von Herrn Prof. R. Thauer ermöglicht.

Blutzuckerspiegels, deren Ausmaß jedoch etwas geringer war als bei den Kaninchen (Tab. 3). Dagegen war die Empfindlichkeit größer; die am Kaninchen unwirksame Dosis 0,1 mg/kg war hier deutlich wirksam. Die bekannte stärkere Empfindlichkeit des Hundes gegen die sedative Reserpinwirkung sahen wir auch. Die Dosis von 0,3 mg/kg erwies sich schon als zu hoch. Eines der beiden damit behandelten Tiere ging am 3. Tag nach der Injektion ein. TRAPOLD, PLUMMER und YONKMAN verwendeten dagegen beim Hund Dosen von 0,5—1,0 mg/kg.

Tabelle 3.

Hund Nr.	Reserpin mg/kg i.v.	Blutzucker mg%					
		nüchtern	4 Std	6 Std	8 Std	24 Std nach Reserpin	1 Woche nach Reserpin
1	0,1	94	115	101	103	106	99
2	0,1	89	99	119	121	110	88
3	0,2	85	101	118	174	120	90
4	0,2	86	95	101	114	136	82
5	0,3	98	110	117	120	103 (48 Std)	† am 3. Tag
6	0,3	90	111	124	126	137	97
2	0,28 cm³ Diäthylacetamid in Aqua dest.	85	89	76	79		

Blutzuckerspiegel bei Hunden nach Reserpin in verschiedener Dosierung und in einem Kontrollversuch mit gleicher Menge des Lösungsvermittlers und Aqua dest. wie bei 0,2 mg/kg Reserpin.

Hinsichtlich des Wirkungsmechanismus der Reserpin-Hyperglykämie stehen die Befunde am ehesten mit der Annahme einer zentralen Erregung sympathischer Nervenelemente, wie bei der Morphinwirkung, in Einklang. Dies steht zwar in gewissem Gegensatz zu der sonst starken zentral depressiven Reserpinwirkung, doch erscheint uns eine solche differenzierte Einwirkung auf verschiedene zentrale Funktionssysteme wohl möglich. Auf eine zentral stimulierende Wirkungskomponente weist auch der Befund eines leichten Mäuseschwanzphänomens (BEIN) hin.

Die von NEUGEBAUER u. LANG beobachtete gegensätzliche, hypoglykämische Wirkung des Gesamtextraktes hängt, insoweit es nicht zu Blutzuckersteigerung gekommen ist, vermutlich mit einer geringeren Dosierung im Zusammenhang mit dem Reserpingehalt des verwendeten Extraktes zusammen.

Zusammenfassung.

Reserpin bewirkte bei Kaninchen eine Hyperglykämie, die bei der Dosis 0,2 mg/kg s. c. einsetzte und mit 0,3 mg/kg und mehr fast regelmäßig zu erzielen war.

Die hyperglykämische Wirkung war nicht durch eine unter Reserpin eintretende Hypothermie und Atemdepression bedingt. Die Zuckertoleranz war nicht verändert. Doppelseitige Splanchnikotomie verhinderte die Reserpin-Hyperglykämie nicht. Durch Hydergin wurden hyperglykämische und sedative Reserpinwirkung stark gehemmt. Am Hund war die blutzuckersteigernde Wirkung bei Dosen von 0,1 bis 0,3 mg/kg i.v. ebenfalls deutlich ausgeprägt, im Ausmaß jedoch etwas schwächer als am Kaninchen.

Literatur.

Bein, H. J.: Experientia (Basel) **9**, 107 (1953). — Bein, H. J., F. Gross, J. Tripod u. R. Meier: Schweiz. med. Wschr. **1953**, 1007. — Brooks, Ch., R. A. Goodwin and H. N. Willard: Amer. J. Physiol. **133**, 226 (1941). — Kreuger, H., N. B. Eddy and M. Sumwalt: U.S. Public Health Report, Supp. 165 (1938); zit. nach Phatak, N. M , and N. A. David. — Moeller, K. O.: Pharmakologie. Basel 1953. — Neugebauer, R., u. E. K. Lang: Wien. med. Wschr. **1953**, 966. — Phatak, N. M., and N. A. David: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **110**, 139 (1954). — Rothlin, E.: Schweiz. med. Wschr. **1946**, 1254. — Trapold, J. H., A. J. Plummer and F. F. Yonkman: J. Pharmacol. a. Exper. Ther. **110**, 205 (1954). — Tripod, J., H. J. Bein and R. Meier: Arch. internat. Pharmacodynamie **96**, 406 (1954).

Dr. H. J. Kuschke, Bad Nauheim, W. Kerckhoff-Institut.

Aufnahmebedingungen.

I. Sachliche Anforderungen.

1. Der Inhalt der Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören.
2. Der Inhalt der Arbeit darf nicht — sei es auch nur zum Teil oder in anderer sprachlicher Fassung — bereits bei iner anderen Zeitschrift zur Veröffentlichung gelangt oder eingereicht sein.
3. Die Arbeit muß wissenschaftlich wertvoll sein und Neues bringen. Bloße Bestätigungen bereits anerkannter Beınde können, wenn überhaupt, nur in kürzester Form aufgenommen werden. Dasselbe gilt von Versuchen und Beobchtungen, die ein positives Resultat nicht ergeben haben. Arbeiten rein referierenden Inhalts werden abgelehnt, vorufige Mitteilungen nur ausnahmsweise aufgenommen. Polemiken sind zu vermeiden, kurze Richtigstellung der Tatestände ist zulässig. Aufsätze spekulativen Inhalts sind nur dann geeignet, wenn sie durch neue Gesichtspunkte die orschung anregen.

II. Formelle Anforderungen.

1. Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben sein. Die Abbildungsvorlagen sind auf besonderen Blättern inzuliefern. Diktierte Arbeiten bedürfen der stilistischen Durcharbeitung zwecks Vermeidung von weitschweifiger und nsorgfältiger Darstellung. Absätze sind nur zulässig, wenn sie neue Gedankengänge bezeichnen.
2. Die Arbeiten müssen *kurz* und sprachlich gut geschrieben sein. Ausführliche historische Einleitungen sind zu ermeiden. Die Fragestellung kann durch wenige Sätze klargelegt werden. Der Anschluß an frühere Behandlungen des Themas ist durch Hinweis auf die letzten Literaturzusammenstellungen (in Monographien, „Ergebnissen", Handbüchern) erzustellen.
3. Der Weg, auf dem die Resultate gewonnen wurden, muß klar erkennbar sein; jedoch hat eine ausführliche Darellung der Methodik nur dann Wert, wenn sie wesentlich Neues enthält.
4. Jeder Arbeit ist eine kurze Zusammenstellung (höchstens 1 Seite) der wesentlichen Ergebnisse anzufügen, hinegen können besondere Inhaltsverzeichnisse für einzelne Arbeiten nicht abgedruckt werden.
5. Von jeder Versuchsart bzw. jedem Tatsachenbestand ist in der Regel nur *ein* Protokoll (Krankengeschichten, ektionsbericht, Versuch) im Telegrammstil als Beispiel in knappster Form mitzuteilen. Das übrige Beweismaterial ann im Text oder, wenn dies nicht zu umgehen ist, in Tabellenform gebracht werden; dabei müssen aber umfangreiche abellarische Zusammenstellungen unbedingt vermieden werden. (Es wird empfohlen, durch eine Fußnote darauf hinuweisen, in welchem Institut das gesamte Beweismaterial eingesehen oder angefordert werden kann.)
6. Die *Abbildungen* sind auf das wirklich *unbedingt Notwendige* zu beschränken. Kurven, Diagramme usw., die nur ur Illustration von Befunden dienen, die ohne weiteres im Text beschrieben werden können, werden zurückgewiesen. esonders gilt dies von Rußkurven, die nur angebracht werden, wenn damit ganz außergewöhnliche, neue Befunde begt werden. Kurze, aber erschöpfende Abbildungsunterschriften erübrigen nochmalige Beschreibung im Text. Für jede ersuchsart, jede Krankenbeschreibung, jedes Präparat ist nur ein gleichartiges Bild, Kurve u. ä. zulässig. Unzulässig t die doppelte Darstellung in Tabelle und Kurve. Didaktische Gesichtspunkte bleiben bei der Entscheidung über die ufnahme einer Abbildung außer Betracht, da das Archiv nicht von Anfängern gelesen wird.

a) Für Halbtonbilder (Photos, Rußkurven) sind reproduktionsfähige, d. h. scharfe, gut durchgezeichnete Vorlagen Hochglanzabzüge!) einzureichen.

b) Für Kurven und Schwarzweißzeichnungen, die als Strichätzung reproduziert werden sollen, sind saubere, klare, it tiefschwarzer Tusche auf weißes Zeichen- oder Transparentpapier gezeichnete Vorlagen abzuliefern, die nicht mehr mgezeichnet zu werden brauchen. Ist eine Beschriftung vorgesehen, so ist sie ebenfalls reproduktionsfähig in klarer, uberer Blockschrift einzutragen. Ist der Autor dazu nicht in der Lage, wird um Angabe des Beschriftungstextes in leistift gebeten. Bei der Beschriftung durch den Autor ist zu beachten, daß die Höhe der Großbuchstaben und Zahlen der reproduzierten Abbildung 2 mm betragen soll. Ist also eine lineare Verkleinerung der Strichzeichnung auf ½ voresehen, so müßten die Buchstaben 4 mm groß gezeichnet werden.

7. Literaturangaben, die nur im Text berücksichtigte Arbeiten enthalten dürfen, erfolgen mit vollständigem Titel er Arbeit, Zeitschriftentitel in der Abkürzung nach den Periodica medica, Band-, Seiten- und Jahreszahl (Wochenchriften nur Jahres- und Seitenzahl). Die Literaturangaben sind am Schluß der Arbeit nach den Autorennamen alphaetisch anzuordnen und nicht zu numerieren. Werden mehrere Arbeiten des gleichen Autors zitiert, so ist an der beeffenden Stelle im Text eine in Klammer gesetzte 1, 2 bzw. 3 hinter dem Autorennamen einzufügen. Im Literaturerzeichnis steht diese Zahl, ebenfalls in Klammern gesetzt, vor der betreffenden Arbeit. Bücher müssen mit vollem itel, Auflage, Ort, Verlag und Jahr zitiert werden.
8. Die Beschreibung von Methodik, Protokollen und anderen weniger wichtigen Teilen ist für *Kleindruck* vorzuerken. Die Lesbarkeit des Wesentlichen wird hierdurch gehoben.
9. Das Zerlegen einer Arbeit in mehrere Mitteilungen, um den Anschein größerer Kürze zu erwecken, ist unzulässig.
10. Bei Anführungen von Handelspräparaten soll stets neben der Markenbezeichnung die chemische Zusammensetzung egegeben werden.
11. Doppeltitel sind aus bibliographischen Gründen unerwünscht. Das gilt insbesondere, wenn die Autoren in Oberad Untertitel nicht die gleichen sind.
12. Festschriften, Habilitationsschriften und Monographien gehören nicht in den Rahmen einer Zeitschrift.

Soeben erschien:

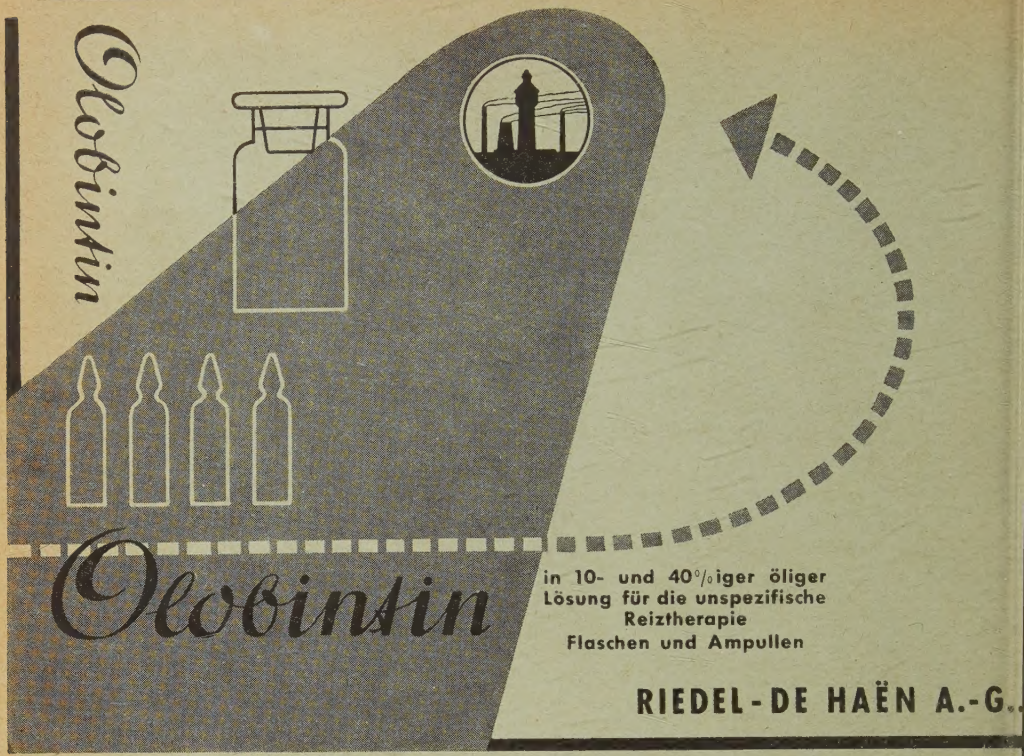
Kurzes Lehrbuch der Physik.

Von Professor Dr. **H. A. Stuart,** Gastprofessor an der Universität Mainz, früher Direktor des Physikalischen Instituts der Technischen Hochschule Dresden.

Vierte, verbesserte Auflage.

Mit 380 Abbildungen. VII, 304 Seiten Gr.-8°. 1954. Ganzleinen DM 19.80

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG



Körperbau und Charakter

Untersuchungen zum Konstitutionsproblem und zur Lehre von den Temperamenten. Von Dr. Dr. h. c. **Ernst Kretschmer,** ord. Professor für Psychiatrie und Neurologie in Tübingen. Einundzwanzigste und zweiundzwanzigste, wesentlich verbesserte und vermehrte Auflage. Mit 81 Abbildungen. XIII, 444 Seiten Gr.-8°. 1955.

Ganzleinen DM 29.60

Inhaltsübersicht: Erster Teil: **Der Körperbau.** I. Methodisches. — II. Die Körperbautypen. — III. Gesichts- und Schädelbau. — IV. Körperoberfläche. — V. Die dysplastischen Spezialtypen. — VI. Vegetative und endokrine Funktionen. — VII. Konstitutionsaufbau. — Zweiter Teil: **Die Temperamente.** VIII. Charakterologische Familienforschung. — IX. Die cycloiden Temperamente. — X. Die schizoiden Temperamente. Allgemeiner Teil. — XI. Die schizoiden Temperamente. Spezieller Teil. — XII. Die cyclothymen und schizothymen Durchschnittsmenschen. — XIII. Die viscösen Temperamente der Athletiker. — XIV. Konstitutionelle Entwicklungsphysiologie. — XV. Experimentelle Typenpsychologie. — XVI. Konstitution und Leistung. — XVII. Konstitution und Verbrechen. — XVIII. Die Genialen. — Dritter Teil: **Theorie der Temperamente und Typen.** XIX. Theorie der Temperamente. — XX. Der Konstitutionstypus als naturwissenschaftliches und erkenntnistheoretisches Problem. — Literatur.

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Diesem Heft liegen zwei Prospekte des Springer-Verlages, Berlin · Göttingen · Heidelberg, und ein Prospekt des Springer-Verlages/Wien, bei.

Verantwortlich für den Anzeigenteil: Günter Holtz, Berlin W 35, Reichpietschufer 20. — Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg. — Druck: Wiesbadener Graphische Betriebe GmbH — Printed in Germany.